

Setor 06. Farmacologia da Inflamação e da Dor

06.001

FORMALDÉIDO ALTERA A ATIVIDADE FUNCIONAL DE FAGÓCITOS DURANTE A INFLAMAÇÃO ALÉRGICA PULMONAR EM RATOS

Lino dos Santos Franco, A.¹; Vanni Domingos, H.¹; Oliveira-Filho, R. M.¹; Vargaftig, B. B.¹; Tavares de Lima, W.¹ - ¹USP - Farmacologia

Introdução: O FA é utilizado na indústria têxtil, plástica, cosmética e está presente no ambiente doméstico. Por causa disso o FA é potencial indutor de asma ambiental e ocupacional. O FA causa inflamação pulmonar e hiperreatividade brônquica (Lino dos Santos Franco *et al.*, 2006). Radicais livres estão potencialmente envolvidos na inflamação asmática e naquela decorrente da exposição ao FA. Assim, neste estudo avaliamos a geração de radicais livres por fagócitos pulmonares de animais alérgicos submetidos previamente à exposição ao FA. **Métodos:** Após 3 dias de exposição inalatória ao FA (1%, 90min), grupos de ratos machos (Wistar, 180g) foram sensibilizados ou não com ovoalbumina (10mg/alumen) e broncoprovocados (1%, 15min) ou não. O lavado broncoalveolar (LBA) realizado 1 dia após. As células recuperadas no LBA foram processadas, incubadas (estufa CO₂) e estimuladas ou não com LPS (200mcug/ml) ou com PMA (20ng/poço) e o sobrenadante da cultura recolhido 24 h após para quantificação de NO₂ e de H₂O₂.

Resultados:	Basal	FA	OA/OA	FA/OA
NO ₂ (μ M/2x10 ⁶ ce ls)	9,6 \pm 2,5	26,8 \pm 6,1*	6,8 \pm 2,5	59,7 \pm 7,9*#
NO ₂ c/LPS	9,08 \pm 1,2	34,1 \pm 5,0*	8,41 \pm 2,5	22,5 \pm 4,3*
H ₂ O ₂ (nM/2x10 ⁶ cé ls)	4,2 \pm 0,4	19,8 \pm 0,8*	8,3 \pm 0,6*	25,2 \pm 1,9*
H ₂ O ₂ c/PMA	7,8 \pm 0,8	20,6 \pm 1,6*	15,5 \pm 1,8*	49,2 \pm 2,9*#

*P<0,05 X basal; #P<0,05 X FA e OA/OA. **Conclusões:** A exposição ao FA exacerba a geração de NO₂ e H₂O₂ na vigência de evento alérgico. Visto a elevada atividade funcional desses fagócitos, o FA pode mediar a deterioração da asma ocupacional e ambiental. **Apoio Financeiro:** FAPESP, CAPES e CNPq.

06.002

ENHANCED CYTOKINES PRODUCTION IN BRONCHI OF CONTROL- BUT NOT CAPSAICIN-TREATED RATS EXPOSED TO AMBIENT POLLUTANTS

Teles, A. M.¹; Lima, C.²; Boletini-Santos, D.²; Teixeira, S. A.¹; Muscara, M. N.¹; Antunes, E.³; Camargo, E.³; Kumagai, Y.⁴; Costa, S. K. P.¹ - ¹ICB - USP - Pharmacology; ²Butantan Institute - Immunology; ³UNICAMP - Pharmacology; ⁴Tokuba University - Pharmacology

Introduction: sensory C fibers play a pivotal role in the inflammatory response evoked by short term exposure to 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ) and diesel exhaust (DE) in the rat airways (Teles et al., E-journal of Br Pharmacol Society, 121P, 2005). We have furthered our study in order to examine the role of cytokine and chemokine production as well as nitrated proteins. **Methods:** male and female Wistar rats (250 – 300 g), either control or capsaicin-treated, were anaesthetized with ketamine and xylazine. Rats intratracheally received DE (1 mg/kg), 1,2-NQ (35 nmol/kg), DE + 1,2-NQ or vehicle. Capsaicin-treated rats were i.tr. injected with the mixture only. Quantification of IL-1b, IL-6, IL-10, TNF-a, IFN-g, MCP-1 and CXCL1/KC in the main bronchi was evaluated 3 h after pollutants injection via ELISA assay. The expression of NT residues was investigated by Western blot. **Results:** in all groups, neither the cytokines IL-10 and INF-g nor the chemokine MCP-1 were detected. Basal levels of IL-1b, IL-6, TNF-a and CXCL1/KC were found in the vehicle-, 1,2-NQ- and DE-treated rats, whereas high levels of these mediators was found in rats treated with the mixture. This effect was absent in capsaicin-treated rats. Immunoblot did not reveal a different pattern of nitrated proteins among groups. **Discussion:** the associated, but not isolated, pollutants induce high levels of both chemokine CXCL1/KC and cytokines IL-1b, IL-6 and TNF-a in the bronchi of normal but not neuropeptides-depleted rats, thus suggesting that neuropeptides participate in the complex network of pro-inflammatory cytokines and chemokines that regulates airways inflammation evoked by DE and 1,2-NQ. **Supported by:** Thanks CNPq and FAPESP for financial support and MAA Barreto for technical assistance.

06.003

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA, EM CAMUNDONGOS, DE EXTRATOS PREPARADOS A PARTIR DO FUNGO *Polyporus tricholoma*.

Tambosetti, P. D.¹; Demarco, V.²; Liebl, M.³; Vieira, G. R. T.²; Guedes, A.¹; Tavares, L. B. B.³; Beirith, A.² -
¹FURB - Ciências Farmacêuticas; ²FURB - Ciências Naturais; ³FURB - Engenharia Química

INTRODUÇÃO: Para o combate da dor, substâncias de diversas origens são utilizadas, como as produzidas por fungos. O Reino Fungi possui quatro divisões principais: Ascomycota, Basidiomycota, Zygomycota e Chytridiomycota. São reconhecidos três principais tipos de fungos: *bolores*, *leveduras* e *macrofungos*. Os fungos conhecidos como cogumelos correspondem aos basidiomicetos, são ricos em terpenóides e têm grande importância econômica, sendo que neles se inclui o gênero *Polyporus* conhecido popularmente como “orelha de pau” da ordem *Aphyllphorales*. Devido a variedade de efeitos biológicos apresentados pelos fungos do gênero *Polyporus* e a ausência de dados descritos na literatura sobre sua ação analgésica, o objetivo do presente estudo é analisar a possível ação antinociceptiva e/ou antiedematogênica, em camundongos, de extratos preparados a partir da espécie *Polyporus tricholoma*, cultivada em meio líquido. **MÉTODOS:** Foram utilizados camundongos suíços machos (30-35 g, 6-8 por grupo) e os extratos hidroalcoólico (EH) ou acetato (EA), com ou sem micélio de fungo, foram administrados por via oral (200-800 mg/kg, 1 h antes) e avaliados em relação à primeira e segunda fase da nocicepção e edema induzido pela formalina (2,5%) em camundongos. **RESULTADOS:** O EH não causou efeito antinociceptivo ou antiedematogênico significativo no modelo da formalina em camundongos. Ambos EA apresentaram efeito antinociceptivo significativo, sendo as inibições máximas (%) 40,68±16,87 e 52,77±13,29 na primeira fase, e 58,38±20,39 e 74,89±24,22 na segunda fase, com e sem micélio de fungo, respectivamente. **CONCLUSÃO:** Curiosamente, o EA de *Polyporus tricholoma* sem micélio de fungo apresenta maior efeito antinociceptivo no modelo da formalina em camundongos, o que pode ser devido à liberação de metabólitos secundários no meio de cultivo. Devido à presença de polissacarídeos e sesquiterpenos presentes em alguns extratos preparados a partir dos fungos do gênero *Polyporus*, existe uma grande probabilidade de que estes apresentem efeitos terapêuticos benéficos. **Apoio Financeiro:** FURB

06.004**BALANÇO TNF- α /IL-10 DETERMINA O CURSO DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM MODELO CLINICAMENTE RELEVANTE DE SDRA INDUZIDA POR ASPIRAÇÃO ÁCIDA**

Soares, A. L.¹; Decimoni, T. C.¹; Oliveira-Filho, R. M.¹; Vargaftig, B. B.¹; Tavares de Lima, W.¹ - ¹ICB - USP - Farmacologia

Introdução: A aspiração pulmonar de conteúdos gástricos é complicação freqüente em pacientes internados em UTI, e potencial indutora da síndrome do desconforto respiratório agudo (SRDA). Neste estudo avaliamos o curso da inflamação pulmonar decorrente da instilação nasal (in) de suco gástrico (SG) e a geração de TNF- α e IL-10 no pulmão. **Métodos:** Camundongos C57Bl/6 machos foram instilados com 2 ml/kg de SG. Após 2 ou 22 h, os animais foram mortos, o lavado broncoalveolar (LBA) coletado para determinação de citocinas (ELISA) e o parênquima pulmonar isento de sangue intravascular processado para medida da atividade de mieloperoxidase (MPO). O grupo controle consistiu de animais não manipulados (Basal). **Resultados:** (média \pm DP; 7 animais por grupo).

	MPO (OD 450 nm)	PMN LBA ($\times 10^3$)	TNF- α (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
Basal	0,214 \pm 0,010	3,5 \pm 1,0	49,5 \pm 21,5	151,6 \pm 31,2
SG 2 h	0,326 \pm 0,054*	4,0 \pm 0,9	375,8 \pm 103,4*	287,3 \pm 18,6*
SG 22 h	0,221 \pm 0,023	23,3 \pm 10,5*	55,5 \pm 12,5	277,8 \pm 63,8*

* P<0,05 vs grupo basal. **Discussão:** A aspiração de SG causa aumento inicial da aderência de PMN ao parênquima pulmonar, que se correlaciona com a elevação da relação TNF- α /IL-10 no LBA na 2^a h. A redução da MPO se associa à menor relação TNF- α /IL-10 na 22^a h. O aumento tardio do número de PMN no LBA pode ser interpretado como consequência do pico inicial de TNF- α . Os resultados são sugestivos de que o tratamento de pacientes sujeitos a aspiração ácida deva ser concentrado no período inicial pós-insulto e focado no bloqueio do TNF- α . **Apoio Financeiro:** FAPESP (03/02271-0), CNPq.

06.005

EFEITO DO SB225002, ANTAGONISTA DO RECEPTOR CXCR2 PARA QUIMIOCIAS, NA COLITE INDUZIDA POR TNBS EM CAMUNDONGOS.

Bento, A. F.¹; Balz, D.¹; Quintao, N. L. M.¹; Vitor, C. E.¹; Leal, P. C.²; Campos, M. M.³; Calixto, J. B.¹ -
¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - QMC/CFM; ³PUC - RS - Odontologia

Introdução: O SB225002 (SB) tem sido descrito como uma importante ferramenta no estudo da migração de neutrófilos. O presente trabalho avaliou os efeitos do SB na colite induzida por TNBS em camundongos.

Métodos e Resultados: Após jejum de 24h camundongos suíços machos (35-40g) receberam 0,1 ml de ácido 2,4,6-trinitrobenzeno sulfônico (TNBS; 2.5 mg em 50% etanol) via retal para indução da colite. O SB ou dexametasona foram administrados 24h após a indução da colite 2 vezes ao dia. Os grupos controle receberam salina 0,9%. Decorridas 72h após a indução da colite, os animais foram sacrificados e o cólon removido para avaliar os parâmetros macroscópicos e a atividade da mieloperoxidase (MPO). O dano macroscópico e a atividade da MPO foram 16 e 29 vezes maior nos animais do grupo TNBS comparado ao grupo salina respectivamente. O SB (0,1; 1; 3 ou 10 mg/kg, i.p.) inibiu significativamente o escore macroscópico com inibições de (33±17, 83±0.2, 78±14 e 25±9%), respectivamente, bem como a dexametasona (1 mg/kg, s.c.) (87±3%). O SB (0,1; 1; 3 ou 10 mg/kg) reduziu a atividade da MPO (20±6, 82±5, 59±12 e 55±14%) respectivamente. A dexametasona reduziu significativamente a MPO em (90±2%). **Conclusões:** Conclui-se que o SB foi efetivo em reduzir os danos teciduais, bem como o infiltrado de neutrófilos presentes na colite induzida por TNBS, sugerindo que o SB possui um potencial terapêutico para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como a colite. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX, FAPESC e CAPES.

06.006

PAPEL DOS HORMÔNIOS SEXUAIS FEMININOS (HSF) NA MODULAÇÃO DA EXPRESSÃO DE MOLÉCULAS DE ADEÇÃO EM MODELO DE INFLAMAÇÃO ALÉRGICA PULMONAR (IAP).

Ligeiro de Oliveira, A. P.¹; Vanni Domingos, H.¹; Oliveira-Filho, R. M.¹; Tavares de Lima, W.¹ - ¹USP - Farmacologia

Introdução: A terapia de reposição hormonal em mulheres na pós-menopausa associa-se ao aumento na incidência de asma (Cohen & Holbrook, 2004), fenômeno que pode também relacionar-se com aumento da expressão de moléculas de adesão por efeito dos HSF. Neste estudo, avaliamos a participação dos HSF na modulação da expressão de E- e L-selectinas, ICAM-1 e Mac-1 em ratas ovariectomizadas (OVx) e submetidas a IAP. **Métodos:** Ratas foram sensibilizadas (OA/alúmen) após 1 (OVx-1) ou 7 dias de OVx (OVx-7) ou falsa operação (Sh). Após 14 dias, foram desafiadas (OA, 1%), sacrificadas 24 h após, realizado lavado broncoalveolar (LBA) e as células utilizadas para análise da expressão de ICAM-1, Mac-1 e L-selectina por intensidade de fluorescência em citometria de fluxo. Em outra série de experimentos, cortes em criostato de amostras de pulmão foram usados para análise imuno-histoquímica da expressão de E-selectina (unidades arbitrárias). **Resultados:**

	E-selectina	L-selectina	Mac-1	ICAM-1
Basal	1,1±0,03	10,5±0,5	12±1,8	10,2±0,3
Sh-1	1,45±0,08	9,5±0,12	15,5±1,0	13,3±0,2
OVx-1	1,8±0,08*	11,2±0,8*	19±0,5*	18,1±1,1*
Sh-7	1,9±0,08	11,9±0,5	27,5±1,5	19±1,4
OVx-7	1,3±0,1*	10,2±0,1	20,7±1,4*	14,2±0,7*

* p<0,05 em relação ao respectivo grupo Sh. **Discussão:** A oscilação nos níveis hormonais no momento da sensibilização com OA aumenta (OVx-1) ou reduz (OVx-7) a expressão posterior de moléculas de adesão. Verificamos, assim, a participação dos HSF na magnitude da IAP através de seu efeito sobre a modulação das moléculas de adesão. **Apoio Financeiro:** FAPESP (01/13384-4; 04/14128-0) e CNPq.

06.007

THE REGULATORY ROLE OF SEX HORMONES IN A MURINE MODEL OF ALLERGIC LUNG INFLAMMATION.

Riffo-Vasquez, Y.¹; Ligeiro de Oliveira, A. P.²; Tavares de Lima, W.²; Spina, D.¹ - ¹King's College London - Pharmacology; ²ICB - USP - Farmacologia

Introduction: We have investigated the effect of estradiol on pulmonary recruitment of eosinophils, cytokine release and spleen proliferation in a murine model of allergic inflammation. **Methods:** Female BALB/c mice were immunized with ovalbumin (OVA: 10µg/mouse i.p. in Alum) or Alum (Sham) alone on day 0 and day 7. In some groups, ovaries were removed 7 days before first immunization in other groups the ovaries were removed 1 day after second OVA injection (Ovx). From day 14, all mice were challenged with Ova (3%) once daily for 3 days and 24 h after the last challenge underwent bronchoalveolar lavage (BAL). **Results:** A significant increase in eosinophils numbers (Sham $0.3 \pm 0.3 \times 10^4$ cells/ml, $P < 0.05$, $n = 30$) and IL5 levels in the lung (Sham: 9.5 ± 7 pg/ml vs OVA: 144.6 ± 48 pg/ml $P < 0.05$, $n = 10$) was observed following antigen challenge. We show that removal of the ovaries 7 days before sensitization to OVA significantly inhibited lung eosinophilia (Ovx: $6 \pm 1.5 \times 10^4$ cells/ml, $P < 0.05$ cf Ova, $n = 30$) and IL5 levels in lung lavage (Ovx: 46.9 ± 18.2 pg/ml, $P < 0.05$ cf Ova, $n = 10$). The removal of ovaries after immunization did not reduce the eosinophil recruitment to the lung after OVA challenge (OVA: 63 ± 9 vs Ovx $84 \pm 10 \times 10^4$ cells/ml, $P < 0.05$, $n = 30$). In contrast, significantly higher level of IL5 was measured in BAL fluid from Ovx mice compared to OVA mice (OVA: 520 ± 44 pg/ml vs Ovx: 1063 ± 44 pg/ml, $P < 0.05$, $n = 10$). OVA (0.1 µg/ml) significantly increased the *in vitro* proliferation of spleen cells obtained from OVA immunized animals compared to Sham (Sham: 50 ± 6 vs OVA: 247 ± 23 % of control, $n = 3$). However, spleen cells obtained from mice ovariectomized prior to sensitization had a significantly reduced proliferative response to OVA when compared to immunized mice with intact ovaries (Ovx: 42 ± 4.3 % of control, $n = 3$) and significantly reduced levels of IL5 (OVA: 670 ± 39 vs Ovx: 321 ± 15.2 pg/ml, $P < 0.05$). Spleen cells obtained from mice ovariectomized after sensitization show similar levels of proliferation in comparison to OVA group however, levels of IL-5 are significantly higher (OVA: 950 ± 64 vs Ovx: 1354 ± 75 pg/ml, $P < 0.05$), confirming *in vivo* results. **Conclusion:** These results suggest that sex hormones play an important role in modulating the immune response to ovalbumin in female mice. **Supported by:** Sackler Intitute, king s college London

06.008

MECHANISM UNDERLYING THE PROTECTIVE EFFECT OF ANNEXIN 1-DERIVED PEPTIDE AC2-26 ON THERMAL HYPERALGESIA CAUSED BY ALLERGEN IN RATS.

Calvano Bonavita, A. G.¹; Cordeiro, R. S. B.¹; Silva, P. M. R. e¹; Martins, M. A.¹ - ¹FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica

INTRODUCTION: In previous investigations we showed that the N-terminal peptide of annexin 1 (peptide Ac2-26) inhibits allergen-evoked inflammation in a rat pleurisy model. This study was undertaken in order to investigate the effect of Ac2-26 on allergen-induced hyperalgesia and edema in the rat hind paw system.

METHODS: Wistar rats were sensitized with a mixture of Al(OH)₃ plus ovalbumin (OVA), and challenged with OVA 14 days later. Alternatively, naïve rats were intraplantarly injected with a combined solution of histamine (10 µg/paw) and 5-hydroxytryptamine (5-HT) (2 µg/paw). Rats were pretreated with an intraplantar injection of Ac2-26 peptide in the presence or absence of the formyl peptide receptor antagonist (BOC, 1.2-10 nmols), 1 h before stimulation. **RESULTS:** Allergen challenge as well as histamine plus 5-HT yielded a rapid thermal hyperalgesia and edema formation in the ipsilateral paws, both reaching a plateau from 15 min to 3 h, diminishing thereafter. Hyperalgesia and edema triggered by either allergen or histamine-5-HT mixture were inhibited dose-dependently by the peptide Ac2-26 (25-100 µg/paw). Furthermore, the peptide inhibitory effect upon hyperalgesia and edema was clearly prevented by BOC as administered in combination with peptide Ac2-26. **CONCLUSION:** We conclude that the peptide Ac2-26 inhibits thermal hyperalgesia and edema evoked by allergen and vasoactive amines by signaling through formyl peptide receptors. **Supported by:** CNPq/FAPERJ.

06.009

IS ACOMETACIN A PRO-DRUG?

Chavez-Pina, A. E.¹ - ¹University of Calgary - Pharmacology and Therapeutics

Chávez-Piña, AE^{1,2}. McKnight, W². Dicay, M². Castañeda-Hernández, G¹. Wallace, JL². ¹Sección Externa de Farmacología, CINVESTAV/IPN, Mexico,

D.F., Mexico. ²Inflammation Research Network, University of Calgary, Calgary, Alberta, Canada.

INTRODUCTION: Acemetacin is an NSAID that is considered a pro-drug of indomethacin, and produces significantly less gastric damage. The anti-inflammatory effects of acemetacin are proposed to occur following hepatic metabolism to indomethacin¹. However, others report that acemetacin inhibits PGE₂ and TXB₂ synthesis *in vitro*². **AIM:** To address whether locally administered acemetacin inhibits inflammation to the same extent as indomethacin. **METHODS:** A rat air pouch model was used³. Equimolar doses of indomethacin (1-30 mg/kg) or acemetacin were administered directly into the pouch. Leukocyte infiltration, exudate PGE₂ production and whole blood TXB₂ synthesis were measured. **RESULTS:** Acemetacin and indomethacin exhibited similar, dose-dependent inhibition of leukocyte infiltration and PGE₂ production. Acemetacin and indomethacin also inhibit systemic TXB₂ synthesis to the same extent. **DISCUSSION:** The ability of acemetacin to suppress inflammation and PG synthesis when given locally suggest either that acemetacin is itself an active agent, or that biotransformation to indomethacin occurs within the airpouch. Ongoing analysis of exudates and plasma acemetacin/indomethacin levels will provide further insights. ¹Bori-Segura. Proc. Western Pharmacol. Soc.45: 104, 2002. ²Tavares, IA. Int. J. Tiss. React. XV (2): 49, 1993. ³Ferrandiz ML. Agents Actions. 32(3-4), 1991.

06.010

THE ROLE OF iNOS IN OSTEOBLAST AND OSTEOCLAST DIFFERENTIATION

Herrera, B. S.¹; Muscara, M. N.¹; Van Dyke, T. E.²; Gyurko, R.² - ¹USP - Farmacologia; ²Boston University - Periodontology and Oral Biology

Introduction: Inflammatory stimuli activate inducible nitric oxide synthase (iNOS) in a variety of cell types, including macrophages, osteoclasts (OC) and osteoblasts (OB), resulting in a sustained release of nitric oxide (NO). The role NO in bone metabolism is not clear: large doses inhibit or kill osteoblasts and osteoclasts, but complete inactivation of iNOS genes in mouse knockouts result in impaired function in these cells.

Objective: To investigate the role of iNOS in osteoblast and osteoclast differentiation. **Materials and**

Methods: OC and OB were extracted from iNOS KO and wild type (WT) mice. Primary OC cultures were induced in bone marrow cultures of male mice with M-CSF and RANKL. OB were isolated from calvaria of 3 days old mice and induced with Vitamin D3. To analyze OC differentiation, the culture was stained with TRAP. OB were stained with Alkaline Phosphatase (AP) to analyze differentiation and Von Kossa (VK) to analyze calcification. The results were expressed as % of well surface covered. **Results:** When primary OC cultures were induced, significantly fewer TRAP-positive multinuclear cells were found in iNOS KO cultures than in WT ($4.02 \pm 0.57\%$ vs. $8.17 \pm 0.76\%$, respectively; $P < 0.05$). In OB, iNOS KO also showed less cells than WT when stained with VK ($0.56 \pm 0.09\%$ vs. $3.64 \pm 1.08\%$ respectively; $p < 0.05$) and AP (pictures).

Conclusions: iNOS enhances OC differentiation and OB in vitro. This finding suggests that iNOS and its product, nitric oxide, may modulate the effects on bone metabolism. **Supported by:** NIH/NIDCR DE14568, RR00533 and CAPES

06.011

ALTERAÇÕES MOTORAS E OXIDATIVAS EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS AO METILMERCÚRIO ATRAVÉS DO LEITE MATERNO.

Ribas, C. M.¹; Teixeira, A.²; Franco, J. L.¹; Meotti, F. C.³; Stringari, J.²; Dafre, A. L.¹; Santos, A. R. S.¹; Farina, M.⁴ - ¹UFSC - Ciências Fisiológicas; ²UFSC - Bioquímica; ³UFSC - Química; ⁴UFSC - CCB

Introdução: Estudos prévios do nosso grupo demonstraram que a ingestão de metilmercúrio (MeHg) através da água de beber altera os parâmetros oxidativos e comportamentais em camundongos. Além disso, a exposição ao MeHg durante o período gestacional causa distúrbios neurológicos em ratos e humanos. Neste sentido, este estudo examinou os efeitos bioquímicos (parâmetros oxidativos) e comportamentais de animais expostos ao MeHg através do leite materno. **Métodos:** Foram utilizadas fêmeas lactantes que receberam água (grupo controle) ou MeHg 10mg/L (grupo tratado) *ad libitum*. A exposição das mães ao MeHg iniciou imediatamente após o nascimento da prole e no 22^o dia após o nascimento a prole foi submetida ao teste do rota-rod. Posteriormente, prole e mães tiveram o cerebelo retirado para as dosagens bioquímicas e dosagem dos níveis de MeHg. **Resultados:** O tempo de permanência no rota-rod foi significativamente menor nos animais que foram expostos ao MeHg através do leite materno. Os níveis de MeHg estavam superiores em mães e prole expostos ao MeHg 2.602,0±135,1 e 394,5±52,9, respectivamente, quando comparados ao controle 291,8±69,3 e 88,1±7,4. A análise de duas vias mostrou uma interação significativa ($F_{1,17} = 178,3$; $P < 0,001$) entre o tratamento e o estado ontogenético dos animais. A prole exposta ao MeHg teve níveis de glutathiona (GSH) diminuídos comparada ao controle e nenhuma alteração da atividade da glutathiona redutase (GR). Embora, as mães expostas ao MeHg tiveram aumento nos níveis de GSH e da atividade da GR. Além disso, observou-se uma correlação positiva entre os níveis de GSH e a atividade da GR de mães expostas ao MeHg (Coeficiente de Person = 0,889; $P < 0,001$). **Discussão:** Os resultados obtidos neste estudo mostram que a exposição lactacional ao MeHg leva a distúrbios no desempenho motor o qual está diretamente relacionado a uma diminuição nos níveis de GSH; além disso, o aumento nos níveis de GSH acompanhados do aumento da atividade da GR em mães expostas a MeHg podem representar um mecanismo de resposta compensatório aos danos oxidativos causados pelo MeHg. **Apoio Financeiro:** CAPS, CNPq, FAPESC, UFSC

06.012

AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS 1,3-BENZODIOXOLA, ANÁLOGOS DO COMPOSTO LASSBIO 259.

Lima, C. K. F.¹; Faoro, D.²; Fraga, C. A. M.³; Barreiro, E. J.³; Miranda, A. L. P.³ - ¹UFRJ - Faculdade de Farmácia - Fármacos - LASSBio; ²UFRJ - Instituto de Química - LASSBio; ³UFRJ - Faculdade de Farmácia - LASSBio

Introdução: Tendo em vista a atividade antiinflamatória já verificada para o derivado LASSBio 259 (*LAGES et al., 1998*), planejado como análogo do flosulido a partir do safrol, este trabalho visa a avaliação farmacológica de uma nova série de compostos 1,3-benzodioxola, visando a otimização de LASSBio 259, empregado como protótipo para esta série. **Métodos e Resultados:** Os compostos foram avaliados quanto as atividades antiinflamatória e analgésica nos ensaios de edema de pata de rato induzido por carragenina (Cg - 1000 µg/pata) e de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,1N, respectivamente. LASSBio 259 foi avaliado também no ensaio de hiperalgésia térmica induzida por Cg. Todos os compostos foram administrados por via oral na dose de 100 µmol/kg, 1h antes dos estímulo algésico ou inflamatório. Apenas os compostos LASSBio 1065 e LASSBio 1066 apresentaram atividade analgésica, inibindo as contorções em 36%* e 30%*, respectivamente. LASSBio 259 inibiu as contorções abdominais em 47%*. Quando avaliados na inflamação, observamos efeito significativo para LASSBio 1065 (32%*), 1066 (24%*) e também para LASSBio 1069 (23%*). LASSBio 1065 foi o mais ativo e se comporta de forma semelhante a LASSBio 259 (39%*). LASSBio 259 apresentou efeito anti-hiperalgésico bastante acentuado, aumentando o tempo de permanência dos animais sob a placa em 77% (n=8-10; *p<0,05). **Conclusão:** As modificações estruturais realizadas levaram a obtenção de uma nova série de compostos bioativos na inflamação e na analgesia. Os resultados obtidos destacam o derivado LASSBio 1065 como mais ativo e demonstram que os novos análogos sintetizados mantiveram as atividades previstas para o composto protótipo LASSBio 259. A análise da relação estrutura-atividade desta nova série indica que a presença do grupamento farmacofórico -NHSO₂CH₃, presente em inibidores seletivos de COX-2, é fundamental para a manutenção da atividade antiinflamatória, visto que os compostos -NO₂, -NH₂ e -NHCOCH₃ tiveram suas atividades diminuídas ou suprimidas. **Apoio Financeiro:** PRONEX, CAPES, CNPq, FAPERJ e FUJB

Avaliadores

Paulo de Assis Mello

Ana Maria Moura da Silva

06.013

INFLUÊNCIA DO ESTADO DIABÉTICO SOBRE A INFLAMAÇÃO ALÉRGICA PULMONAR EM CAMUNDONGOS

Barreto, E.¹; Arantes, A. C. S. de²; Farias-Filho, F. A.²; Serra, M. F.²; Carvalho, V.²; Hogaboam, C.³; Cordeiro, R. S. B.²; Martins, M. A.²; Silva, P. M. R. e² - ¹UFAL - Genética e Biologia Molecular; ²FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica; ³University of Michigan Medical School, USA - Pathology

Introdução: Já foi reportado que a diabetes determina uma menor incidência de respostas de natureza alérgica. No presente estudo investigamos a influência do estado diabético sobre o desenvolvimento da resposta alérgica pulmonar. **Métodos:** Camundongos foram injetados com aloxana (i.v.) e sensibilizados (s.c.), 5 e 19 dias após a indução da diabetes, com uma mistura de ovalbumina (OVO) e Al(OH)₃. Os animais foram desafiados nos dias 25 e 26, através de instilação nasal de OVO (25 µg) e as análises realizadas 24 h após a última estimulação. Foram avaliados hiperreatividade das vias aéreas (AHR) e o infiltrado eosinofílico no lavado broncoalveolar (BAL) e no tecido pulmonar. Quantificação dos mediadores IL-5 e eotaxina foi realizada por ELISA. **Resultados:** Verificamos que os camundongos diabéticos e sensibilizados apresentaram supressão da AHR, em associação com marcada inibição do infiltrado de eosinófilos tanto no BAL como no tecido. Níveis de IL-5 e eotaxina mostraram-se significativamente diminuídos no tecido pulmonar de animais diabéticos em comparação com aqueles não diabéticos. **Conclusão:** Nossos resultados mostraram que camundongos diabéticos e sensibilizados apresentaram-se refratários à estimulação alérgica pulmonar conforme evidenciado pelo menor índice de AHR, fenômeno que se mostrou diretamente associado ao menor infiltrado eosinofílico tecidual e geração de fatores eosinofilotáticos. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPERJ, PAPES 3/FIOCRUZ.

06.014

MANGIFERIN INHIBITS ALLERGEN-INDUCED LUNG INFLAMMATION AND AIRWAYS HYPERREACTIVITY IN SENSITIZED MICE

Alves, F. M. S.¹; Cardozo, S. V. S.¹; Serra, M. F.¹; Coelho, L. P.¹; Cordeiro, R. S. B.¹; Silva, P. M. R. e¹; Veloso, M. P.²; Santos, M. H.²; Martins, M. A.¹ - ¹FIOCRUZ - Inflammation; ²UNIFAL - Farmácia

Background and AIM: Formulations containing an extract of *Mangifera indica* L. have been ethnopharmacologically used for the treatment of asthma. In this work, we have investigated the effect of the xanthone mangiferin (MF), a prominent extract component, on allergen-evoked lung inflammation and airways hyperreactivity (AHR). **METHODS:** Mice of strain A were subcutaneously sensitized on days 1 and 14 by a mixture of Al(OH)₃ + ovalbumin (OVA) and daily challenged from days 19 to 20 by 25 µg OVA (25 µl, i.n.), to establish a murine model of acute asthma characterized by airways inflammation and hyperreactivity (AHR). Whole-body plethysmography (enhanced pause, Penh) was used to monitor changes in methacholine reactivity. MF treatment was given orally 1 h before provocations and the analyses occurred 24 h after the last provocation. **RESULTS:** Sensitized and challenged mice treated with MF (50 mg/kg) experienced a significant protection of the increased Penh noted after aerosolization of methacholine. Allergen-evoked eosinophil accumulation in blood, BAL effluent and lung digesting samples were also clearly inhibited. Histopathological analysis revealed that MF reduced the peribronchial inflammatory infiltration and mucus production. **CONCLUSION:** Our findings show that oral treatment with mangiferin abrogates crucial events in the frame of asthma dysfunction, suggesting that it may have value in asthma therapy. **Supported by:** FAPERJ and CNPq

06.015

MAST CELLS IN EXPERIMENTAL LUNG SILICOSIS.

Farias-Filho, F. A.¹; Carvalho, V.¹; Lucena, S. L.¹; Savino, W.²; Cordeiro, R. S. B.¹; Martins, M. A.¹; Silva, P. M. R. e¹ - ¹FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica; ²FIOCRUZ - Pesquisa Sobre o Timo

Introduction: Tissue fibrosis is frequently associated with increase in mast cell (MC) numbers. In this study, we investigated the potential involvement of MCs in experimental silicosis in mice. Expression of MC survival factors and extracellular matrix components (ECM) was also evaluated. **Methods:** Silica particles were administered intranasally in to Swiss-Webster mice and the analyses performed 28 days later. Lung morphological alterations, MC number and expression of proteic factors were performed by means of staining and immunohistochemical techniques. **Results:** Lung examination revealed an extensive fibrotic response and numerous granulomas, mostly of peribronchiolar distribution in silicotic mice. In parallel, there was a marked increase in the number of MCs (from 1.37 ± 0.52 to 5.96 ± 1.60)(n=8), exhibiting a clear connective-tissue phenotype. We detected that transforming growth factor (TGF)- β , stem cell factor (SCF) and interleukin (IL)-3 were highly expressed in silicotic lungs. Fibronectin and laminin were also up-regulated under silicosis. Interestingly, the supernatant recovered from isolated mast cells stimulated with silica *in vitro* showed the ability to increase survival of fibroblasts in culture (from 0.154 ± 0.007 to 0.292 ± 0.008)(n=6), . **Conclusion:** Our findings show that there is a rise in mast cell numbers in the lung of chronic silicotic mice, in a clear association with over-expression of TGF-b, SCF, IL-3 and ECM elements. Also, silica-activated MCs showed the ability to increase fibroblast survival, clearly indicating that MCs might effectively contribute to pulmonary fibrosis triggered by silica in mice. **Supported by:** CNPq, FIOCRUZ.

06.016

ENVOLVIMENTO DAS MOLÉCULAS DE ADESÃO NA INFLAMAÇÃO PULMONAR CAUSADA PELA ISQUEMIA/REPERFUSÃO INTESTINAL (I/R-i). PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA LINFÁTICO.

Cavriani, G.¹; Vanni Domingos, H.¹; Oliveira-Filho, R. M.²; Tavares de Lima, W.³ - ¹USP - Farmacologia; ²USP - ICB; ³ICB - USP - Farmacologia

Objetivos. Neste estudo avaliamos o efeito da secção do ducto linfático torácico (DLT) sobre a expressão de ICAM-1 e MAC-1 (citometria de fluxo) e E-selectina (imuno-histoquímica) na inflamação pulmonar causada pela I/R-i. **Métodos.** Após a secção do DLT, ratos foram submetidos à I/R-i (45min/2h). A expressão de ICAM-1 e MAC-1 foi avaliada em células do lavado do leito vascular pulmonar. A quantificação da expressão de E-selectina foi realizada em pulmão. O grupo controle consistiu de ratos não manipulados (basal) e falso-operado. **Resultados.** A I/R-i aumentou expressão de ICAM-1 nas células mononucleares (22.3±0.8%) em relação ao controle (1.9±0.3%) e basal (3.6±0.4%). A secção do DLT reduziu a expressão dessa molécula (11.7±1%) em relação ao grupo I/R-i com o DLT intacto (22.3±0.8%). Observamos aumento da expressão de MAC-1 no grupo I/R-i com o DLT intacto (99±2.3%) em relação ao controle (81±2.7%). A secção do DLT no grupo I/R-i diminuiu a expressão de MAC-1 em neutrófilos (88±2.5%) em relação ao grupo I/R-i com o DLT intacto. Observamos que a E-selectina está mais expressa no grupo I/R-i em relação ao falso-operado. Entretanto, notamos marcação de menor intensidade no grupo I/R-i com o DLT seccionado em relação ao falso-operado com o DLT seccionado ou não. **Conclusão.** Sugerimos que a expressão dessas moléculas de adesão encontram-se reduzidas quando o DLT foi seccionado, reforçando o conceito que a ausência do fluxo linfático atenua a inflamação pulmonar observada na I/R-i. **Apoio Financeiro:** FAPESP 02/06607-0, 02/06606-3, 04/14128-0

06.017

ANTI-ALLERGIC EFFECT OF SELECTIVE NON-PEPTIDE KININ B₁ RECEPTOR ANTAGONIST SSR240612 ON MOUSE OVALBUMIN-INDUCED PLEURISY

Costa, R.¹; Fernandes, E. S.¹; Marotta, D. M.¹; Campos, M. M.¹; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia

Introduction: It was demonstrated the efficacy of kinin B₁ receptor antagonists on allergic airway inflammatory models (Calixto J.B., Br. J. Pharmacol. 143: 803, 2004). Here, we sought to evaluate the effects of a novel kinin B₁ receptor antagonist SSR240612 on the allergic pleurisy induced by ovalbumin (OVA) in sensitized mice. **Methods:** Pleurisy was induced in male Swiss mice (30-35 g) by intrathoracic injection of OVA. Animals were killed at 4 or 24 h after OVA-challenge. The appraised parameters were total and differential (mononuclears, neutrophils and eosinophils) cell counts into the pleural cavity. **Results and discussion:** Intrapleural OVA injection was able to induce a marked increase in mononuclear and polymorphonuclear (neutrophils at 4 h and eosinophils at 24 h) cell recruitment into the pleural cavity. Intraperitoneal treatment with non-peptide B₁ receptor antagonist SSR240612 (1 mg kg⁻¹, i.p., 30 min.) produced a significant decrease in the cellular migration (64 ± 6 %) into the pleural cavity, inhibiting the influx of mononuclear (64 ± 5 %) and neutrophil (63 ± 10 %) cells at 4 h. In the same way, SSR240612 (1 mg kg⁻¹, i.p., 1 day, every 12 h) was capable of reducing the total cell recruitment (38 ± 10 %), decreasing both mononuclear (33 ± 13 %) and eosinophil (58 ± 10 %) into the inflamed site at 24h. These results suggest that SSR240612 might represent new therapeutic option for treating allergic inflammatory conditions, especially those related to the respiratory tract. **Supported by:** CNPq/ FAPESC/FINEP/PRONEX

06.018

ADDITIONAL EVIDENCE ON THE EFFECTS OF NOVEL SELECTIVE NON-PEPTIDE KININ B₁ RECEPTOR ANTAGONISTS IN MOUSE CARRAGEENAN-INDUCED PLEURISY

Costa, R.¹; Fernandes, E. S.¹; Menezes de Lima Jr., O.¹; Campos, M. M.²; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²PUC - RS - Escola de Odontologia

Introduction: Intraperitoneal (i.p.) administration of the selective non-peptide B₁ receptor antagonists, benzodiazepine (BZD) and SSR240612, was found able to inhibit the first phase of carrageenan (Cg) mouse pleurisy (Costa R., XX FESBE, 2005). Here, we provide further evidence on the anti-inflammatory effects of both non-peptide antagonists. **Methods:** Swiss mice (20-25 g, N = 6) received an intrapleural injection of Cg (1 %, 0.1 ml) and were sacrificed at 4 or 48 h. The evaluated parameters were cellular influx and plasma exudation, mouse lung myeloperoxidase (MPO) activity and mouse lung and pleural cytokine (IL-1 β and TNF α) production. **Results and discussion:** Surprisingly, SSR240612 (1 mg kg⁻¹, i.p., 2 days, every 12h) produced a considerably increase of plasma exudation without altering the cellular influx at 48h. Interestingly, the oral administration of SSR240612 (10 mg kg⁻¹, 1h) significantly reduced the total cell migration and the neutrophil recruitment induced by Cg at 4h. Only BZD antagonist (3 mg kg⁻¹, i.p., 30 min) significantly inhibited the lung MPO activity at 4h. Moreover, none of the tested antagonists (i.p.) inhibited the lung and pleural TNF α and IL-1 β release at 4h. Our results provide new evidence on the anti-inflammatory *in-vivo* effects of two novel non-peptide B₁ receptor antagonists and extend the notion on the possible future therapeutic applications of this group of drugs. **Supported by:** CNPq/ FAPESC/FINEP/PRONEX

06.019

NEUTROPHIL INFLUX IS IMPLICATED IN THE SUSTAINED THERMAL HYPERALGESIC RESPONSE EVOKED BY ALLERGEN PROVOCATION ON ACTIVELY SENSITIZED RATS

Lavich, T. R.¹; Siqueira, R. A.¹; Farias-Filho, F. A.¹; Cordeiro, R. S. B.¹; Silva, P. M. R. e¹; Martins, M. A.¹ -
¹FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica

Introduction: Allergic inflammation has been shown to be more complex in actively than in passively sensitized rats concerning leukocyte recruitment and cytokines levels. The aim of this study was to assess the profile of allergen-evoked hyperalgesia in passively and actively sensitized rats, and to define the role of neutrophils and lymphocytes. **Methods:** Wistar rats were passively sensitized with an intraplantar injection of MAb IgE anti-DNP and challenged with DNP-BSA 24 h later. Rats were actively sensitized with a mix of Al(OH)₃ and ovalbumine, and challenged intraplantarly with ova 14 days later. Hyperalgesia was measured using a modified hot plate test. **Results:** In IgE sensitized rats, hyperalgesia peaked 15 min post-challenge and reduced within 3 h. In actively sensitized rats, the hyperalgesia appeared quite comparable in terms of intensity but plateaued from 15 min to at least 6 h post-challenge. Actively sensitized rats had higher neutrophil influx in the paw tissue, as attested by MPO activity and histopathology. Fucoidin or neutrophil antiserum reduced neutrophil accumulation and the late hyperalgesia noted from 3 to 6 h post-challenge. Levels of neutrophils chemoattractants, IL-6 and CINC-1, were found higher on paw tissue of actively sensitized rats. Lymphocytes probably have decisive role since the cyclosporine inhibited the increase of CINC-1, MPO activity and hyperalgesia. **Conclusion:** These results indicate that the components of the cellular immune reaction are crucial in order to amplify and sustain the hyperalgesia triggered by allergen, in a process dependent on neutrophils and lymphocytes. **Supported by:** FAPERJ and CNPq

06.020

COMPROMETIMENTO DA RESPOSTA ALÉRGICA CUTÂNEA EM RATOS DIABÉTICOS: PAPEL DE MASTÓCITOS E MATRIZ EXTRACELULAR.

Campos, L. V.¹; Farias-Filho, F. A.¹; Carvalho, V.¹; Barreto, E.²; Pirmez, C.³; Savino, W.⁴; Martins, M. A.¹; Silva, P. M. R. e¹ - ¹FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica; ²UFAL - Genética e Biologia Molecular; ³FIOCRUZ - Imunidade Celular; ⁴FIOCRUZ - Pesquisa Sobre o Timo

Introdução: Mastócitos apresentam-se claramente comprometidos em número e reatividade na condição diabética. Neste estudo, investigou-se a influência do estado diabético sobre a resposta alérgica cutânea em ratos Wistar, com ênfase sobre mastócitos e matriz extracelular (ECM). **Métodos:** Ratos foram tornados diabéticos por injeção de aloxana e a sensibilização realizada através da injeção (s.c.) de Al(OH)₃ + ovoalbumina (OVO), 11 dias após a indução do diabetes. O desafio antigênico constou da injeção intradérmica de OVO, na região dorsal de animais sensibilizados. A avaliação de mastócitos foi feita por meio de técnica histológica e componentes da ECM por imunohistoquímica. **Resultados:** Vimos que ratos diabéticos, na condição de marcada hiperglicemia, apresentaram-se menos reativos à estimulação antigênica dérmica, em associação direta com redução na população de mastócitos localizados na derme, de $72 \pm 4,64$ mastócitos/mm² (n = 11) em animais não diabéticos para $57 \pm 4,13$ mastócitos/mm² (n = 10) em animais não diabéticos, e no conjuntivo do subcutâneo dorsal. Redução na expressão de laminina e fibronectina foram também detectadas nos animais diabéticos. Mais ainda, o tratamento com insulina reverteu significativamente as alterações verificadas nos animais diabéticos. **Conclusão:** Nossos resultados mostram que a resposta inflamatória alérgica cutânea está suprimida em ratos diabéticos, de forma paralela à depleção na população mastocitária dérmica e redução em componentes da ECM. Ambas as alterações verificadas na pele de animais diabéticos foram sensíveis ao tratamento com insulina. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPERJ

06.021**EFEITO DE INIBIDORES DA SECREÇÃO DE MASTÓCITOS E SULFASALAZINA SOBRE COLITE ULCERATIVA (C.U.) COM RECIDIVA EM RATOS WISTAR.**

Luchini, A. C.¹; Oliveira, D. M. C.¹; Fonseca, V. B.²; Di Stasi, L. C.³; Gomes, J. C.⁴ - ¹UNESP - Botucatu - Farmacologia; ²UNESP - IB - Botucatu - Fisiologia; ³Instituto de Biociências - Farmacologia; ⁴UNESP - Botucatu

Introdução: O papel de mastócitos nas doenças inflamatórias intestinais não está bem esclarecido. Estudamos efeitos de sulfasalazina, quercetina, nedocromil e doxantrazol, sobre o número e secreção de mastócitos. **Métodos:** A C.U. foi induzida por administração intracolônica de 0,25 mL de ácido trinitrobenzeno sulfônico - TNBS (10 mg em etanol 50%) e aos controles 0,25 mL de salina a 0,9%. Os ratos com C.U. foram tratados 2 horas antes da indução da recidiva no 14^o dia com nedocromil, doxantrazol, quercetina (via i.p.) e sulfasalazina (via oral) até o 26^o dia. Os mastócitos foram quantificados pela coloração azul de toluidina. Dosagens de histamina foram feitas pelo método fluorométrico. **Resultados:** Tabela: Conteúdo total de histamina e número de mastócitos no cólon (média± E.P.M.).

	Salina	TNBS	Sulfasalazin a (25mg/Kg)	Quercetina (10mg/Kg)	Nedocromil l (100mg/kg)	Doxantrazol (5mg/Kg)
Histamina (mg/g)	6,8±0,5	10,6±0,8*	7,8±0,9	12,7±0,6*	6,1±0,5	13,4±1,6*
N ^o de mastócitos	57±8,6	177,3±18,5 *	104±14,8	162,3±19,9 *	106±9,5	126,9±13,2*

n=5, * p<0,05. ANOVA (Tukey-Kramer).

Discussão: A inibição da secreção dos mastócitos por quercetina e doxantrazol não alterou a concentração de histamina, mostrando que embora o número de mastócitos esteja aumentando não estão secretando, caso contrário a concentração de histamina seria maior. Os grupos nedocromil ou sulfasalazina tiveram menor quantidade de histamina e menor número de mastócitos, indicando possível inibição de proliferação celular. **Apoio Financeiro:** CAPES

06.022

EFFECT OF HEME OXYGENASE (HO) INHIBITION ON FAILURE OF NEUTROPHIL MIGRATION AND SEVERITY IN POLYMICROBIAL SEPSIS.

Freitas, A.¹; Alves-Filho, J. C.¹; Spiller, F.¹; Dal Secco, D.¹; Mendonça, A. L.¹; Cunha, F. de Q.¹ - ¹FMRP - USP - Pharmacology

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 seems to be mediated by 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 in mice subjected to polymicrobial sepsis induced by CLP. **Methods and Results:** Balb/c mice submitted to lethal sepsis (L-CLP) were pretreated with saline or ZnDBPG (10mg/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. As consequence they exhibited efficient bacterial clearance and controlled the infection locally, improved the survival rate, in 40%. Furthermore, the inhibition of HO prevents hypotension in mice subjected to polymicrobial sepsis. **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:** FAPESP/CAPES/FAEPA

06.023

CINÉTICA DA INTERAÇÃO LEUCÓCITO-ENDOTÉLIO INDUZIDA POR CARRAGENINA (Cg) EM CAMUNDONGOS

Zychar, B. C.¹; Nunes, F. P. B.¹; Gonçalves, L. R. C.¹; Sousa-E-Silva, M. C. C.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia

Introdução: Modelos utilizando a Cg como agente flogístico são amplamente utilizados. A inflamação induzida pela Cg em cavidades pleural e peritoneal é caracterizada por um marcante acúmulo de exsudato e intensa migração de células. A injeção intraplantar desse agente induz uma inflamação marcante com desenvolvimento de edema e hiperalgesia. Estudos envolvendo a Cg na interação leucócito-endotélio são bastante escassos. O objetivo do presente trabalho foi avaliar e caracterizar o efeito da Cg na interação leucócito-endotélio na microcirculação do músculo cremaster de camundongos, avaliada por microscopia intravital, em diferentes intervalos de tempo. **Métodos:** A Cg (300µg/100µL) ou salina (100µL) foram injetados no s.c. da bolsa escrotal de camundongos Swiss. Após 1, 2, 4 e 24h da injeção da Cg, o cremaster foi exposto e a microcirculação analisada. Dez min após a exposição da microcirculação, foram avaliados o *rolling*, adesão e migração de leucócitos, durante 1 min, em uma porção de 100µm de uma vênula pós-capilar de 20 a 40µm. **Resultados:** A Cg induziu um aumento da adesão desde a 1^ah (Cg 7,3±1,05; Sal 0,4±0,24) progredindo até 4h (Cg 16,2±0,5; Sal 0,5±0,22). Ainda neste tempo, a adesão se estabiliza e a migração celular se exacerba (Cg 18,2±2,6; Sal 1,0±0,3) apresentando um pico em 24h (Cg 22,6±1,5; Sal 0,1±0,0). **Conclusão:** A Cg no decorrer do tempo mostrou-se extremamente flogística comparada ao controle. O uso da Cg induzindo a interação leucócito-endotélio colabora para futuros estudos sobre mecanismos envolvidos no processo inflamatório. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq, FAPESP

06.024

MECHANISMS INVOLVED ON INHIBITION OF NEUTROPHIL RECRUITMENT BY CHRONIC BLOCKAGE OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS

Hebeda, C. B.¹; Mello, S. B. V.²; Farsky, S.¹ - ¹USP - Análises Clínicas e Toxicológicas; ²FM - USP - Reumatologia

Introduction: We previously showed that nonspecific chronic inhibition of NO synthases inhibits neutrophil migration to inflammatory site, dependent, at least in part, on impairment on leukocyte-endothelial interactions and on decreasing of L-selectin expression (Farsky et al., *Inflamm. Res.* 53:442-52, 2004). Now, we are investigating the role of the treatment on secretion of glucocorticoids and on endothelial adhesion molecules expressions. **Methods:** Male Wistar rats were treated with L-NAME or D-NAME (20 mg/kg/day, oral route, during two weeks). Circulating NO and corticosterone were measured by gaseous phase chemiluminescence and radioimmunoassay, respectively. Expressions of P-selectin, ICAM-1 and PECAM-1 on endothelium of postcapillary venules from cremaster muscle were evaluated by immunohistochemistry using FITC-labeled monoclonal antibodies. **Results:** The effectiveness of L-NAME treatment was accomplished by reduction of about 50% on circulating NO. Corticosterone levels in serum was not modified by the treatment, as well as, the expressions of adhesion molecules, in both basal or stimulated conditions. **Conclusions:** Data obtained suggest that inhibition on neutrophil recruitment induced by chronic blockage of NO synthesis is not depending on glucocorticoid secretion or inhibition of endothelial adhesion molecules. **Supported by:** FAPESP (grant 02/02659-5), CNPq.

06.025

MORPHINE-INDUCED FEVER IN RATS IS INDEPENDENT ON INTERLEUKIN-1 β , TUMOR NECROSIS FACTOR- α AND INTERLEUKIN-6 RELEASE.

Fraga, D.¹; Zamprônio, A. R.²; Souza, G. E. P.³ - ¹USP - RP - Farmacologia; ²UFPR - Farmacologia; ³FCFRP - USP - Física e Química

Aim: Opioid administration induces an increase on body temperature followed by a centrally-mediated response of peripheral vasoconstriction characteristic of a febrile response. The aim of this study was to investigate if morphine induces fever through the synthesis/release of cytokines. **Methods:** Body temperature was evaluated by biotelemetry every 15 min. Male Wistar rats (180g) were treated i.c.v. with interleukin-1 receptor antagonist (IL-1RA 200 μ g), soluble tumor necrosis factor receptor (sTNFr 500 ng) or anti-IL-6 antibody (IL-6Ab 5 μ g), 30min before i.c.v. injection of morphine (10 μ g). **Results:** IL-1RA reduced the fever induced by IL-1 β (IL-1RA/Sal: 0.0 ± 0.1 ; Sal/IL-1 β : 1.4 ± 0.2 ; IL-1RA/IL-1 β : 0.4 ± 0.2). sTNFr and IL-6Ab reduced the fever induced by TNF- α (sTNFr/Sal: 0.0 ± 0.1 ; Sal/TNF- α : 1.3 ± 0.2 ; sTNFr/TNF- α : 0.5 ± 0.1) and IL-6 (IL-6Ab/Sal: 0.1 ± 0.1 ; Sal/IL-6: 1.5 ± 0.2 ; IL-6Ab/IL-6: 0.8 ± 0.1), respectively. On the other hand, morphine induced a febrile response with a rapid onset that peaked at 1.5h (Sal/Sal: 0.0 ± 0.1 °C; Sal/Morph: 2.5 ± 0.1 °C). None of the anti-cytokines altered morphine-induced fever. **Conclusions:** These results suggest that morphine induces fever independent on IL-1 β , TNF- α and IL-6 synthesis/release and that endogenous opioids may figure among the final mediators of fever. **Supported by:** CNPq

06.026

EFEITO DOS DERIVADOS *N*-ACILIDRAZÔNICOS (NAH) LASSBIO 883 E 891 SOBRE A HIPERALGESIA TÉRMICA INDUZIDA EM RATOS.

Lacerda, D. I.¹; Bezerra Netto, H. J. C.¹; Fraga, C. A. M.¹; Barreiro, E. J.¹; Miranda, A. L. P.¹ - ¹UFRJ - Faculdade de Farmácia - LASSBio

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 dos compostos LASSBio 883 e LASSBio 891 no modelo de hiperalgisia térmica e edema temporal (Lavich et al, Braz. J. Biol. Med. Res., 2005, 38:445-451). Em estudos anteriores, estes compostos apresentaram uma expressiva potência analgésica nos modelos de contorção abdominal induzida por ácido acético 0,1N (L891 - DE₅₀ = 14,5 µmol/kg e L883 - DE₅₀ = 10,8 µmol/kg) e dor induzida por formalina 2,5% (Lacerda et. al, SBFTE 2004). **Métodos e Resultados:** A hipernocicepção térmica foi avaliada no ensaio de placa quente modificado induzido por carragenina (1000µg/pata) e bradicinina (100nmol/pata) em ratos. Os compostos foram administrados nas doses de 100 µmol/kg (v.o.) e a talidomida 100 µmol/kg (i.p.), 1h e 0,5h antes da administração da carragenina (Cg), respectivamente. LASSBio 883 e LASSBio 891 apresentaram atividade antihiperalgésica significativa com inibição variando 40% a 60% (n=8-10, *p<0,05). LASSBio 883 inibiu a hiperalgisia desde 30 min até 4 horas após a Cg e LASSBio 891 apresentou inibição nos tempos de 2, 3 e 4 horas, cujo efeito é acompanhado temporalmente pela inibição simultânea da formação do edema. Esses mesmos compostos não apresentaram atividade na hiperalgisia induzida por bradicinina. A administração da talidomida (inibidor de TNF-α) em conjunto com L883 e L891 potencializou o efeito antihiperalgésico dos compostos, inibindo significativamente a hiperalgisia em torno de 70% e 80%, respectivamente. **Conclusões:** LASSBio 883 foi o composto mais ativo. A resposta hiperalgésica é mediada pela formação de citocinas (TNF-α) e PGs (Cunha et al, PNAS, 2005, 102:1755-1760). A administração concomitante da talidomida foi relevante para o aumento da atividade antihiperalgésica destes compostos, sugerindo que os mesmos possam estar atuando em uma via comum a da talidomida ou em outros mediadores (formação de PGs), produzindo efeito sinérgico. **Apoio Financeiro:** PRONEX, CNPq, FAPERJ E CAPES.

06.027

ANALYSIS OF THE POSSIBLE MECHANISMS IMPLICATED IN THE CONTRACTILE RESPONSES CAUSED BY BRADYKININ IN THE MOUSE COLON

Balz, D.¹; Fernandes, E. S.¹; Campos, M. M.²; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²PUC - RS - Odontologia

Introduction: Bradykinin (BK) and the related kinins form a group of peptides produced from the cleavage of kininogens by tissue or plasmatic kallikreins, which play an important role in the pathogenesis of inflammation, tissue damage and repair. Kinins exert their effects by the activation of two receptors B₁ and B₂. Previous studies have demonstrated that BK-induced contractile responses in a concentration-dependent manner of the mouse colon preparation. The aim of this study was to investigate some mechanisms involved in BK-induced contractile response in this preparation. **Methods:** Male Swiss mice (30-40g) were killed and their colons were removed, isolated (4cm), and cleaned (but not opened). Longitudinal colon preparations (1.5 cm) were set up in organ baths under a resting tension of 1g and were allowed to equilibrate for at least 40 min before drug addition. Isometric contractions were recorded. Contractile responses were elicited by BK (0.1-10,000 nM). Preparations were pre-incubated for at least 20 min in the presence or absence of different drugs. Results were expressed as the percentage of the carbachol-induced contraction (100 mM). **Results:** BK induced-response was significantly diminished by atropine (58%), indomethacin (42%), rofecoxib (37%), SC560 (30%), CGRP fragment 8-37 (49%), TTX (40%), nicardipine (35%), capsazepine (32%) all tested at 1mM. On the other hand, MK-571 tested at 100 nM produced only a partial inhibition (17%). **Conclusions:** BK is capable of inducing contractile responses in the mouse colon, via activation of B₂ receptors, involving the participation of the neural release of acetylcholine, activation L- and N-type voltage-gated calcium channels, neuropeptides release, prostanoides and leukotrienes. **Supported by:** CNPq/CAPES/PRONEX/FAPESC

06.028

PHARMACOLOGICAL STUDY OF KININ B₂ RECEPTOR IN THE NORMAL AND INFLAMMATED MOUSE COLON

Balz, D.¹; Fernandes, E. S.¹; Campos, M. M.²; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²PUC - RS - Cirurgia - Odontologia

Introduction: It has been largely demonstrated that kinins play a pivotal role in several pathophysiological processes of the gastrointestinal tract. The present study investigated the mouse colon contraction responses induced by BK in the presence of B₁ and B₂ receptor antagonists and the functional up-regulation of B₂ receptors following colitis. **Methods:** Male Swiss mice (30-40g) were killed and their colons were removed, isolated (4cm), and cleaned (but not opened). Preparations (1.5 cm) were set up in organ baths under a tension of 1g. Concentration-response curves (CRCs) were constructed to BK (0.1-10,000 nM). The selective B₂ Hoe 140 (3-30 nM) and FR 173657 (10-100 nM) or B₁ des-Arg⁹-[Leu⁸]-BK (1 mM) receptor antagonists were incubated at least 10 min beforehand. Colitis was induced by TNBS (2,5mg in 50% of ethanol). B₂ receptor densities in control and inflamed colons were assessed by means of binding studies. **Results:** The pre-incubation of the selective B₂ (but not B₁) receptor antagonists caused a concentration-dependent shift to the right of CRCs for BK, accompanied by a reduction of R_{max}. Besides, colitis induction resulted in a marked and significant increase of B₂ receptor binding sites, as observed by an enhancement of about 2,25-fold in the B_{max} value, without K_d value alteration. **Conclusions:** Our results show that BK contractile responses in the mouse colon are likely mediated by B₂ receptors activation and indicate that TNBS treatment is capable of causing an enhancement of B₂ receptor densities of this preparation. **Supported by:** CNPq/CAPES/PRONEX/FAPESC

06.029

NITRIC OXIDE INHIBITS NEUTROPHIL MIGRATION BY A MECHANISM DEPENDENT ON ICAM-1: ROLE OF SOLUBLE GUANYLATE CYCLASE

Dal Secco, D.¹; Freitas, A.¹; Cunha, F. de Q.² - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²USP - FMRP

INTRODUCTION: It was addressed the role of ICAM-1 in neutrophil migration (NM) to inflammatory site and whether the inhibitory effect of nitric oxide (NO) upon the neutrophil (N) rolling (R), adhesion (A) and migration (M) involves down-modulation of ICAM-1 expression through a cGMP dependent mechanism.

METHODS AND RESULTS: It was observed that NM induced by LPS-100ng, in ICAM-1^{-/-} ($3.5 \pm 0.1 \times 10^6$ N) is similar to that observed in WT mice ($3.6 \pm 0.1 \times 10^6$ N). The treatment of mice with NOS inhibitor, 1400W or with guanylate cyclase (sGC) inhibitor, ODQ enhanced LPS-induced NM (1400W: $7.6 \pm 0.2 \times 10^6$ N; ODQ: $8.0 \pm 0.2 \times 10^6$ N), NR (LPS: 40 ± 0.2 ; 1400W: 80 ± 0.2 ; ODQ: 78 ± 0.3 cells/min) and NA (LPS: 0.2 ± 0.3 ; 1400W: 0.6 ± 0.2 ; ODQ: 0.5 ± 0.1 cells/10 μ m²) on venular endothelium. However, the treatment of the mice with SNAP (NO donor) reduced these parameters (M: $1.5 \pm 0.1 \times 10^6$ N; R: 10 ± 0.1 cells/min; A: 0.02 ± 0.2 cells/10 μ m²) LPS-induced by a mechanism sensitive to ODQ pretreatment. The inhibitor 1400W did not enhance LPS-induced cell adhesion and NM (0.23 ± 0.1 cells/10 μ m²; $3.7 \pm 0.3 \times 10^6$ N) in ICAM-1^{-/-} mice. Moreover, the inhibition of NOS or sGC enhanced LPS-induced ICAM-1 expression on mesenteric vessels of WT mice. By contrast, SNAP reduced the ICAM-1 expression by a mechanism dependent on cGMP (LPS: 40 ± 0.1 ; 1400W: 70 ± 0.4 ; ODQ: 72 ± 0.6 ; SNAP: 15 ± 0.3 ; ODQ+SNAP: 80 ± 0.1 %perimeter/ μ m). **DISCUSSION:** The results suggest that although during inflammation, ICAM-1 does not contribute to NM, it is necessary for the NO down-modulatory effect on the neutrophil adhesion and transmigration. In addition, these NO effects are mediated via cGMP. **Supported by:** CAPES, FAEPA.

06.030

ENDOGENOUS GLUCOCORTICOID (GEs) ON ENDOTHELIAL PROPERTIES RESPONSIBLE FOR ENDOTHELIAL-LEUKOCYTE ADHERENCE

Cavalcanti, D. M. H.¹; Lotufo, C. M. da C.²; Ferreira, Z. S.³; Chudzinski-Tavassi, A. M.⁴; Markus, R. P.⁵; Farsky, S.¹ - ¹USP - Análises Clínicas e Toxicológicas; ²FMRP - USP - Farmacologia; ³USP - Fisiologia; ⁴Instituto Butantan - Bioquímica; ⁵IB - USP - Fisiologia

Introduction: We have shown that GEs modulate the leukocyte-endothelium interactions *in vivo* and L-selectin expression on leukocytes (Farsky et al, 1995, J. Leukoc. Biol., 57:379; Cavalcanti et al., 2006, Mol. Cell. Endocrinol., 249:32). Now we have studied the mechanisms of GEs regulation on endothelial cell (EC) adhesive properties. **Methods:** Adrenalectomized (ADX), sham-operated (SO) or normal (N) male Wistar rats (180-220g) were employed as donors of EC. Seven days after the surgeries, cremaster muscle was surgically removed and used to determine the expression of adhesion molecules on EC membranes (immunohistochemistry) or as donor of primary cultured EC. At 10th day of culture, cells were employed to evaluate: 1) *in vitro* adherence of circulating neutrophils; 2) NF kappa B nuclear translocation (gel shift); 3) genic expression of adhesion molecules (PCR reaction). **Results:** Data showed that EC from ADX rats adhered higher number of normal neutrophils (54%); presented higher expressions of ICAM-1 (20%) and PECAM-1 (45%), increased levels of ICAM-1 and PECAM-1 mRNA and elevated NF kappa B translocation into nucleus (240%). **Conclusions:** GEs modulated the EC adherence properties. Interferences on genic and on membrane expression of immunoglobulins, mediated by NF kappa B, may be important targets of the hormonal controls. **Supported by:** FAPESP (grant 03/09410-5), CNPQ

06.031

RELEVANCE OF CELL MIGRATION FOR NOCICEPTIVE AND INFLAMMATORY RESPONSES INDUCED BY PAF.

Marotta, D. M.¹; Fernandes, E. S.¹; Quintao, N. L. M.¹; Costa, R.¹; Leal, P. C.²; Campos, M. M.³; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - QMC/CFM; ³PUC - RS - Faculdade de Odontologia

Introduction: It was previously demonstrated that intradermal (i.d.) injection of PAF is able to induce a marked inflammatory response in rats (Br. J. Pharmacol. 139: 973, 2003). Here, we assessed the role of cell influx in mechanical hypernociception and oedema formation induced by PAF in the rat paw. **Methods:** Male Wistar rats received an i.d. injection of PAF (10 nmol paw⁻¹). To assess the mechanical hypernociception, rat paws were stimulated with von Frey hairs. PAF-induced oedema was measured using a plethysmometer.

Results and Discussion: PAF-induced hypernociception and oedema were maximal at 1 h. Both responses were significantly inhibited (70 ± 10% and 88 ± 5%, respectively) by the PAF receptor antagonist WEB2086 (15 µg/paw). The treatment with SB225002 (a CXCR2 antagonist; 100 nmol/paw), fucoidin (a non-selective selectin blocker; 10 mg kg⁻¹, i.v., 15 min.) or anti-PMN (34 µg kg⁻¹, i.p., 30 min.) markedly reduced the hypernociception (73 ± 9%, 78 ± 13% or 81 ± 7%, respectively), whereas neither anti-CD88 (a C5a receptor antibody; 500 ng paw⁻¹) nor thalidomide (a preferential inhibitor of TNFα synthesis; 50 mg kg⁻¹, p.o., 1h) had any effect. PAF induced-oedema was decreased by administration of fucoidin (50 ± 9%), anti-PMN (72 ± 8%) or thalidomide (53 ± 9%). SB225002 or the anti-CD88 failed to alter this parameter. Our results suggest that cell migration might play a pivotal role in development and maintenance of hypernociception and oedema induced by PAF. **Supported by:** CNPq/PRONEX/FINEP/FAPESC

06.032

EFEITO DE LECTINAS DE LEGUMINOSAS SOBRE A DOR INFLAMATÓRIA E MIGRAÇÃO CELULAR IN VIVO.

Viana, F. A. C.¹; Damasceno, P. G.¹; Bezerra, J. M. A.¹; Moura, C. M.¹; Graça, J. R. V.¹; Cavada, B. S.²; Bezerra, M. M.¹; Lima, V.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFC - Bioquímica e Biologia Molecular

Introdução: Neutrófilos estão envolvidos na dor inflamatória. Decidimos investigar o efeito de lectinas de leguminosas (*Dioclea guianenses*-DGui, *Canavalia gladiata*-Glad e *Canavalia brasiliensis*-ConBr) no modelo de contorções abdominais por ácido acético, buscando correlacionar com o influxo celular. **Métodos:** Camundongos Swiss (± 20 g) receberam (e.v.) Dgui (0,1 ou 1mg/kg), Glad (0,1 ou 1mg/kg) ou ConBr (1mg/kg) 30 min antes da injeção (i.p.) de ácido acético (0,6%-0,1mL/10g). O grupo não tratado (NT) recebeu salina (i.p.). Em seguida, os animais foram colocados sob cilindros de vidro e o número total de contorções abdominais foi contado (0-30min). 4h após, as cavidades peritoneais foram lavadas com salina (0,2ml) e o exsudato coletado para contagem total de células (Neubauer). **Resultados:** Dgui (0,1 ou 1) e Glad (0,1 ou 1) reduziram ($p < 0,001$) o número de contorções (17,6 \pm 5,9, 35,8 \pm 5,9, 9,3 \pm 2,5, 18,3 \pm 6,5, respectivamente), comparado ao NT (77,2 \pm 4,6). ConBr não reduziu ($p > 0,05$) o número de contorções. Apenas Glad (0,1 ou 1) reduziu ($p < 0,05$) o influxo celular (1160 \pm 263 e 1300 \pm 252, respectivamente), comparado ao NT (3640 \pm 906).

Discussão: O efeito analgésico de Dgui não depende do influxo celular. Outras vias podem estar sendo ativadas pela Dgui, como a modulação de níveis de GMPc/AMPC nos nociceptores. Por outro lado, o efeito analgésico de Glad depende do influxo celular. ConBr possui propriedades pró-inflamatórias.

06.033

ALPHA-1-ACID GLYCOPROTEIN FROM SERUM OF SEPTIC PATIENTS INHIBITS NEUTROPHIL MIGRATION

Spiller, F.¹; Mestriner, F. L. A. C.²; Laure, H. J.³; Tavares-Murta, B. M.⁴; Rosa, J. C.⁵; Basile-Filho, A.⁶; Ferreira, S. H.¹; Greene, L. J.³; Cunha, F. de Q.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²FMRP - USP - Clínica Médica; ³Centro de Química de Proteínas e Centro Regional de Hemoterapia - Biologia Celular, Molecular e Bioagentes Patogênicos; ⁴UFTM - Ciências Biológicas; ⁵FMRP - USP - Biologia Celular, Molecular e Bioagentes Patogênicos; ⁶FMRP - USP - Cirurgia e Anatomia

Failure of neutrophil migration is a key event in severe sepsis and there are indirect evidences for the existence of factor(s) capable of inhibiting neutrophil migration in the serum of septic patients. The objective of the present study was to identify substances in the blood of septic patients that inhibit neutrophil migration. A pool of sera obtained from 68 severely septic patients partially inhibited (~90%) carrageenin-induced neutrophil migration into the peritoneal cavity of rats. One protein was isolated from septic serum by chromatography on Blue-Sepharose, HPLC and polyacrylamide gel electrophoresis which was identified as alpha-1-acid glycoprotein by mass spectrometry. This identification was confirmed by the demonstration that a commercial sample of the human protein (4.0 µg/rat) had the same inhibitory activity (~85%) under neutrophil migration as the protein (4.0 µg/rat) isolated from the serum of septic patients. Analyses by intravital microscopy demonstrated that both 4.0 µg/rat proteins isolated from septic serum and 4.0 µg/rat of commercial sample of alpha-1-acid glycoprotein also inhibited rolling (~85%) and adhesion (~70%) of leukocytes in the mesenteric microcirculation. The administration of alpha-1-acid glycoprotein (40.0 µg/rat) to rats submitted to mild polymicrobial sepsis also inhibited (~45%) neutrophil migration to the infection focus and reduced survival from ~80% to ~20%. By extrapolating our results to clinical sepsis we conclude that alpha-1-acid glycoprotein is one of the circulating mediators involved in neutrophil migration failure in human sepsis. **Supported by:** FAPESP, CAPES, CNPq, FAEPA and PRONEX

06.034

PAPEL DA PROSTAGLANDINA F_{2α} NO RECRUTAMENTO LEUCOCITÁRIO INDUZIDO POR LPS PARA A CAVIDADE PERITONEAL DE RATOS

Menezes, G. B.¹; Francischi, J. N.¹ - ¹UFMG - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: O recrutamento de leucócitos da microcirculação para os tecidos é um evento crucial para o desenvolvimento e manutenção das doenças inflamatórias. Diversas moléculas participam da quimiotaxia de leucócitos, porém o envolvimento dos prostanóides neste processo é ainda pouco estabelecido. O objetivo deste trabalho foi estudar a participação de prostanóides no recrutamento leucocitário para a cavidade peritoneal de ratos induzido por LPS. **Materiais e Métodos:** LPS (*E. coli*), PGE₂ ou PGF_{2α} foram injetados intraperitonealmente no tempo zero em ratas Holtzman adultas que foram previamente tratadas (doses em mg/Kg, ½ h antes, sc) com inibidor inespecífico (indometacina), seletivo para COX-1 (SC560) ou COX-2 (rofecoxibe). Os leucócitos foram contados sob microscopia ótica e a concentração de PGF_{2α} no sobrenadante do lavado peritoneal foi obtida por ELISA. **Resultados e Discussão:** O LPS induziu de maneira dose-dependente um aumento no número de leucócitos, que alcançou valores máximos com a dose de 0,3 micrograma/animal (C=12.0±1.3; LPS=19,0±2.5 x 10³/mm³, 6^a hora, ANOVA, p<0.05), que foi acompanhado de um aumento de 100% da concentração de PGF_{2α} (15 a 30 min após LPS). Somente os animais tratados com inibidores seletivos de COX-2 e indometacina apresentaram uma redução significativa no número de leucócitos. Ainda, PGF_{2α}, mas não PGE₂, foi capaz de induzir migração leucocitária para a cavidade peritoneal de ratos quando injetada intraperitonealmente, e a reposição de PGF_{2α} nos animais previamente tratados com inibidor seletivo de COX-2 e injetados com LPS foi capaz de restabelecer a migração inibida pelo rofecoxibe. Nossos dados sugerem que a liberação de PGF_{2α} provoca o recrutamento de leucócitos para a cavidade peritoneal, sendo a inibição da produção desse mediador pelos inibidores seletivos de COX-2 a principal responsável pelo o efeito antiinflamatório desses compostos. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPEMIG

06.035

PARTICIPAÇÃO DOS COMPONENTES DO CITOESQUELETO NA MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA PARA A CAVIDADE PERITONEAL DE RATOS INDUZIDA POR LPS

Menezes, G. B.¹; Francischi, J. N.¹ - ¹UFMG - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: Durante a inflamação, eventos coordenados culminam na infiltração de leucócitos para os tecidos, também denominada quimiotaxia. A forma dessas células, que é regulada pelo citoesqueleto, é importante para o processo de migração, de modo que esses filamentos são um importante alvo farmacológico para estudo da quimiotaxia. O objetivo deste trabalho foi estudar a ação de drogas modificadoras do citoesqueleto na migração leucocitária para a cavidade peritoneal de ratos induzida por LPS. **Materiais e Métodos:** LPS (*E. coli*) foi injetado intraperitonealmente no tempo zero em ratas Holtzman adultas que foram previamente tratadas (½ h antes, sc ou ip) com inibidor de polimerização de microtúbulos (colchicina; Cch), de microfilamentos de actina (latrunculina B; LatB) ou de filamentos intermediários (acrilamida; Acd). Os leucócitos foram contados sob microscopia ótica. **Resultados e Discussão:** O LPS induziu de maneira dose-dependente um aumento no número de leucócitos, que alcançou valores máximos com a dose de 0,3 micrograma/animal (C=12,0±1,3; LPS=19,0±2,5 x 10³/mm³, 6ª hora, ANOVA, p<0,05). O pré-tratamento dos animais com os modificadores do citoesqueleto (Cch 0,1-10mg/kg; LatB 0,05-10 microgramas/kg e Acd 0,5-10mg/kg) não alterou significativamente o número de células presentes na cavidade peritoneal, ao passo que colchicina (10-100 microgramas/animal) e latrunculina B (0,5-5ng/animal), quando injetadas localmente, reduziram significativamente o recrutamento leucocitário, sendo os neutrófilos o principal tipo celular afetado. Nossos dados sugerem que os microtúbulos e os microfilamentos de actina, mas não os filamentos intermediários, são importantes no processo de migração leucocitária para a cavidade peritoneal induzida por LPS. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPEMIG

06.036

TOLL-LIKE RECEPTOR 2 SIGNALING ACCOUNTS FOR NEUTROPHIL MIGRATION IMPAIRMENT IN POLYMICROBIAL SEPSIS

Alves-Filho, J. C.¹; Spiller, F.¹; Freitas, A.¹; Mendonça, A. L.¹; Silva, J. S.²; Cunha, F. de Q.¹ - ¹FMRP - USP - Pharmacology; ²FMRP - USP - Immunology

Introduction: There is a marked defect in neutrophil migration into the infectious focus during severe sepsis. Recently, we showed that the signaling of TLR4, receptor for LPS from Gram-negative bacteria, drives the systemic activation of the inflammatory cascade, resulting in neutrophil migration impairment during polymicrobial sepsis. This study aimed to investigate also a possible role of TLR2, receptor for cellular wall components of Gram-positive bacteria, on the failure of neutrophil migration focus in mice subjected to polymicrobial sepsis. **Methods:** TLR2 deficient (TLR2^{-/-}) mice and C57BL/6 mice were subjected to non-lethal or lethal polymicrobial sepsis induced by cecal ligation and puncture (CLP). Mice were killed 6h after sepsis induction and intraperitoneal neutrophil migration, bacteremia, lung neutrophil sequestration and cytokines were evaluated. **Results:** It was observed that TLR2 signaling are not essential to display neutrophil migration in non-lethal CLP, but, it is crucial to establish the impairment of neutrophil migration in lethal CLP, since TLR2^{-/-} mice did not present failure of neutrophil migration. Consequently, these animals presented low bacteremia and a high survival rate and did not display systemic inflammation determined by low levels of circulating cytokines and lung neutrophil sequestration. **Discussion:** As observed previously with TLR4, these new results also highlight the harmful role of TLR2 signaling in polymicrobial sepsis. These data have led us to hypothesize that, during an infection which different bacterial ligands are involved, the lack of one TLR signaling do not impair the local inflammatory response, however the activation of all TLRs by their respective agonists accounts to the systemic inflammatory response that result in the impairment of neutrophil migration. Thus, we envisage that the development of specific TLRs antagonists might have potential therapeutic value for the treatment of polymicrobial sepsis. **Supported by:** FAPESP - CNPq - FAEPA

06.037

EFFECTS OF CHRONIC TREATMENT WITH THE NITRIC OXIDE (NO) INHIBITORS L-NAME AND AMINO Guanidine ON EOSINOPHILIC MIGRATION IN A MURINE MODEL OF ASTHMA

Lintomen, L.¹; Souza Filho, L. G.¹; Ferreira, T.¹; Teixeira, S. A.²; Muscara, M. N.²; Antunes, E.¹ -
¹UNICAMP - Farmacologia; ²USP - Farmacologia

Introduction: The role of NO in modulating the eosinophil (EO) influx into the airways of ovalbumin (OVA)-sensitized animal is very controversial, and contrasting data have been reported depending on the animal specie and sensitization schedule. In this study we have investigated the effects of treatments with L-NAME and aminoguanidine (AG) on EO migration in OVA sensitized/challenged mice. **Methods and Results:** BALB/c mice were divided in groups: NS-C (non-sensitized/non-treated), NS-T (non-sensitized/treated), S-C (sensitized/non-treated) and S-T (sensitized/treated). Mice were sensitized and intranasally challenged with OVA and/or treated with L-NAME (50 or 150 mg/kg/day) or AG (20 mg/kg/day) in the drinking water (4 weeks). Intranasal challenge significantly increased the EO counts in bronchoalveolar lavage (BAL) compared with NS-C mice (0.14 ± 0.02 and $0.01 \pm 0.01 \times 10^6/\text{BAL}$, respectively). Chronic treatment with L-NAME largely potentiated the EO counts in BAL (0.36 ± 0.03 and $0.37 \pm 0.03 \times 10^6/\text{BAL}$, for L-NAME 50 and 150 mg/kg/day, respectively) in comparison with control ($0.01 \pm 0.01 \times 10^6/\text{BAL}$). In contrast, AG markedly reduced the EO counts (0.43 ± 0.06 and $0.05 \pm 0.01 \times 10^6/\text{BAL}$, for S-C and S-T groups, respectively). **Conclusion:** Our findings that chronic L-NAME potentiates the EO counts suggest that in our treatment schedule L-NAME has a preference for cNOS, inhibiting physiological NO, which may be important as cytoprotector. **Supported by:** Fapesp

06.038**INFLUÊNCIA DA ADRENALECTOMIA, DEXAMETASONA E N ω NLA NO EDEMA DE PATA INDUZIDO PELA CARRAGENINA E Etx EM RATOS**Rodrigues, L. A.¹; Fracasso, J. F.² - ¹FEB - Barretos - Farmácia-Bioquímica; ²UNESP - Araraquara - PANT

Introdução: O edema é um dos sinais da inflamação causado pela liberação de mediadores do processo inflamatório. O edema de pata constitui um modelo de estudo da inflamação "in vivo". A participação da via L-arginina-NO tem sido implicada neste fenômeno e neste estudo procuramos avaliar esta condição. Métodos: o edema de pata em ratos machos Wistar (220-300g) foi induzido pela injeção intra-plantar (i. pl.) de endotoxina de E. coli (Etx) ou carragenina (Car) em doses de 100 μ g/pata, veiculados em 100 μ l de NaCl (0,9 %) [sal]. Os animais foram distribuídos em 5 grupos: GI, GII, GIII foram tratados 3 horas antes com NaCl 0,9 % (sal), dexametasona 3 mg/kg (Dex) e N ω NLA 25 mg/kg (N ω NLA)[i.p.]; em GIV e GV os animais foram adrenalectomizados e falso operados, respectivamente. Os resultados de espessura da pata (mm), medidos com espessímetro Mitutoyo antes, após 1, 2 e 4 hs da injeções i.pl.; estão apresentados como média \pm epm e a análise estatística feita pelo teste T-Student. P < 0,05 foram considerados significativos. Resultados: Edema de pata (mm)** *

Após 1hr	Após 1hr	Após 2 hr	Após 2 hr	Após 4hr	Após 4hr
Car	Etx	Car	Etx	Car	Etx
0,22 \pm 0,05	0,33 \pm 0,06	0,40 \pm 0,08	0,54 \pm 0,05*	0,63 \pm 0,08	0,75 \pm 0,04
0,25 \pm 0,08	0,39 \pm 0,05*	0,39 \pm 0,04	0,57 \pm 0,08*	0,62 \pm 0,07	0,79 \pm 0,06*
0,26 \pm 0,04	0,12 \pm 0,04**	0,26 \pm 0,05	0,12 \pm 0,05**	0,55 \pm 0,04	0,05 \pm 0,07**
0,28 \pm 0,05	0,42 \pm 0,08*	0,28 \pm 0,04	0,42 \pm 0,04	0,60 \pm 0,06	0,74 \pm 0,04*
0,25 \pm 0,06	0,35 \pm 0,06	0,42 \pm 0,03	0,58 \pm 0,06*	0,63 \pm 0,03	0,72 \pm 0,07

* P < 0,01; ** P < 0,05 n= 5 animais/grupo ***Após 7 e 24 hrs os valores retornaram aos níveis basais
Discussão: Nossos resultados mostram que a Etx apresenta maior ação edematogênica que a Car em animais controles, falso-operados e pré-tratados com Dex, porém em animais Adx o edema foi significativamente reduzido e em animais pré-tratados com N ω NLA ele foi abolido por este inibidor de NO sintase constitutiva. Isto sugere que no edema de pata causado pela Etx está envolvida a via L-Arginina-NO, com a participação das glândulas adrenais, enquanto que os efeitos edematogênicos da Car parece não envolver esta via, nem a participação dos glicocorticóides adrenais. **Apoio Financeiro:** FCF/Unesp-Araraquara, FEB/Barretos /SP

06.039

COMPARAÇÃO DA INTERAÇÃO LEUCÓCITO-ENDOTÉLIO INDUZIDA POR VENENOS OFÍDICOS: *Bothrops jararaca* (VBj), *Crotalus durissus terrificus* (VCdt).

Sousa-E-Silva, M. C. C.¹; Zychar, B. C.¹; Nunes, F. P. B.¹; Gonçalves, L. R. C.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia

Introdução: O VCdt, ao contrário do VBj, não induz reações locais marcantes. Neste estudo foi avaliado, por microscopia intravital, a interação leucócito-endotélio induzida por VBj e VCdt, em diferentes intervalos de tempo. **Métodos:** O VBj (1µg), VCdt (1,5µg) ou controle (salina 100µL) foram injetados no s.c. da bolsa escrotal de camundongos. Após 1, 2, 4 e 24 h da injeção, o cremaster foi exposto. Dez min após a exposição da microcirculação, uma porção de 100 µm de uma vênula pós-capilar (diâmetros de 20-40µm) foram avaliados o número de *rolling*, adesão e migração dos leucócitos, por 1 min. **Resultados:** Foram observadas diferenças significantes entre VBj e VCdt em relação: ao *rolling* na 2^ah (VBj=7,7±1,2; VCdt=18,3±1,2) e 24^ah (VBj=22,2±1,9; VCdt=11,0±0,5); à adesão na 1^ah (VBj=7,6±0,5; VCdt=4,5±0,4) e 4^ah (VBj=15,3±0,7; VCdt=5,1±0,4); e à migração na 4^a (VBj=20±1,2; VCdt=7,8±1,4) e na 24^ah (VBj=16±0,5; VCdt=10±0,3). Em comparação ao grupo controle (*rolling*-2^ah=15,7±1,2; 24^ah=12,4±0,6; adesão-1^ah=0,4±0,2; 4^ah=0,5±0,2; migração 4^ah=1±0,3; 24^ah=0,1±0), com exceção do *rolling* induzido pelo VCdt, ambos os venenos mostraram diferenças significantes. **Conclusão:** O VCdt atua como um agente flogístico fraco, induzindo uma discreta adesão e migração quando comparado ao VBj, que induz uma intensa reação inflamatória. Estes resultados corroboram com as observações clínicas e experimentais. O aumento de migração observado na 24^ah no grupo VCdt pode ser devido à ação miotóxica desse veneno. **Apoio Financeiro:** FAPESP, CAPES, CNPq.

06.040

PARTICIPATION OF CHEMOKINES CXCL1 (KC), CXCL5 (LIX) AND LTB₄ IN THE NEUTROPHIL MIGRATION TO ARTICULAR CAVITY IN THE mBSA-INDUCED ARTHRITIS

Grespan, R.¹; Fukada, S. Y.¹; Lemos, H. de P.¹; Vieira, S. M.¹; Napimoga, M. H.¹; Bertozzi, G.¹; Cunha, F. de Q.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia

Introduction: Antigen-induced arthritis in animals has many histologic features of human rheumatoid arthritis. In this study, we evaluated the participation of several inflammatory mediators involved in the neutrophil migration to the articular cavity on mBSA-induced arthritis model. **Methods:** Immunized mice were treated, 1 h before challenge, with dexamethasone (1 mg/kg; s.c., 1 h), MK 886 (1 mg/kg; v.o.), or repertaxin (30 mg/kg; s.c.). TNF antiserum, anti-CXCL1 and anti-CXCL5 antibodies (250 ng/cavity) were given together with mBSA challenge. Neutrophil migration was measured 24 h after mBSA administration. The results were expressed as mean±SEM; statistics analysis: ANOVA followed by Bonferroni test. **Results:** The mBSA challenge induced a dose and time-dependent neutrophil migration in immunized mice when compared with control group. Treatment with a corticoid (Dex), inhibitor of leukotrienes synthesis (MK), antagonist of CXCR1/2 receptor (RPT), a-CXCL1, and a-CXCL5 were able to inhibit the neutrophil migration. Nevertheless, the TNF antiserum (a-TNF-α) did not change the migration after antigenic challenge. **Discussion:** According to our results, LTB₄, CXCL1 and CXCL5 play an important role for neutrophil migration in mBSA-induced arthritis model. However, the mechanisms of the neutrophil recruitment to articular cavity in the mBSA-induced arthritis need to be investigated. **Supported by:** CNPq, FAPESP, CAPES and PRONEX

06.041

THE ANTIMIGRATORY EFFECT OF POTASSIUM DICLOFENAC WAS IMPAIRED BY AMLODIPINE IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS (SHR)

Rodrigues, S. F.¹; Loiola, R. A.¹; Rastelli, V. M. F.¹; Nigro, D.¹; Tostes, R. C. A.¹; Nucci, G. de²; Fortes, Z. B.¹ - ¹USP - Farmacologia; ²UNICAMP - Farmacologia

Both enalapril and losartan interfere with the effect of diclofenac on leukocyte behavior in spontaneously hypertensive rats (SHR). We studied if the same occurs with amlodipine. Male SHR were divided into four groups: vehicle, potassium diclofenac 1mg/kg, amlodipine 10mg/kg and diclofenac plus amlodipine, treated for 15 days (v.o.). The blood pressure (BP) was evaluated by indirect tail-cuff method. Leukocyte rolling, adherence and migration were studied by intravital microscopy. Plasma concentration of diclofenac and amlodipine were analyzed by mass spectrometry. Diclofenac did not change ($180.0 \pm 2.3, n=10$) whereas amlodipine reduced the BP levels in SHR ($156.3 \pm 4.3, n=11^*$). Diclofenac diminished leukocyte rolling, adherence and migration ($35.5 \pm 3.4, n=8$; $3.3 \pm 1.0, n=7$; $1.7 \pm 0.4, n=7^{***}$, respectively) vs vehicle ($92.8 \pm 8.2, n=9$; $9.8 \pm 0.8, n=8$; $8.2 \pm 0.7, n=9$) whereas amlodipine only reduced leukocyte adherence ($5.1 \pm 0.6, n=7^*$) and migration ($4.4 \pm 0.4, n=7^{***}$). When both drugs were combined, diclofenac effect on adherence ($6.6 \pm 0.7, n=7^*$) and migration ($6.0 \pm 0.6, n=8^*$) was reduced. The plasma concentration of diclofenac associated ($286 \pm 26 \text{ ng/mL}, n=6$) or not ($222 \pm 25 \text{ ng/mL}, n=6$) to amlodipine was similar. In conclusion, similarly to enalapril and losartan, amlodipine interferes with the effect of diclofenac on leukocyte behavior in SHR, possibly by to interferer with the expression of any adhesion molecule. Key words: Leukocyte, SHR, amlodipine, diclofenac. * $P < 0.05$ and *** $P < 0.001$. **Supported by:** FAPESP/PRONEX

06.042

ENDOTHELINS (ET) MEDIATE NEUTROPHIL MIGRATION AND MECHANICAL HYPERNOCEPTION IN TH1-LIKE IMMUNE INFLAMMATION

Cunha, T. M.¹; Verri Jr., W. A.²; Parada, C. A.¹; Ferreira, S. H.¹; Cunha, F. de Q.² - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²USP - FMRP

Introduction: It has been described that ET has an important role during inflammation, including recruitment of cells and pain. In the present study it was investigated the ET role on these phenomena during a Th1-like immune inflammatory response. **Methods:** Th1-like immune inflammation was induced by the administration of Ovalbumin (OVA) in mice previously immunized with OVA. Neutrophil migration was evaluated in the peritoneal cavity and by measured MPO activity in the skin paw. Hypernociception was evaluated with the electronic pressure meter test. ET levels were evaluated by ELISA. **Results:** The administration of OVA (ip. and i.pl.) in previously immunized mice induced neutrophil migration and mechanical hypernociception, respectively. These OVA effects were reduced by the pretreatment of the animals with a non-selective ETA and ETB receptor antagonist (bosentan-100mg/kg p.o) as well by ETA and ETB selective antagonist (BQ123 and BQ788 respectively). The MPO activity increased in the mice paw by OVA challenge was also reduced by pretreatment of the animals with bosentan, BQ123 and BQ788. In fact, the ip. OVA challenge induced a increase in ET-1 production in comparison with false immunized mice. **Discussion:** These results suggest that ET might mediate the neutrophil migration as well as the genesis of mechanical hypernociception on immune inflammatory response. **Supported by:** FAPESP, CNPq and CAPES

06.043

ZYMOSAN-INDUCED TIBIO-TARSAL JOINT MONOARTHRITIS: ROLE OF PAF ON MECHANICAL HYPERNOCEPTION AND NEUTROPHIL MIGRATION.

Guerrero, A. T. G.¹; Cunha, T. M.¹; Verri Jr., W. A.²; Ferreira, S. H.¹; Parada, C. A.¹; Cunha, F. de Q.² -
¹FMRP - USP - Farmacologia; ²USP - FMRP

INTRODUCTION The intra-articular injection of zymosan in the knee joint has been used as a model of monoarthritis. Intra-articular injection of zymosan induces local inflammation, with the release of inflammatory mediators which induce neutrophil migration and pain (hypernociception). The aim this study was to investigate the participation of PAF in mechanical hypernociception and leukocyte migration in zymosan-induced tibio-tarsal arthritis in mice. **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 zymosan (30microg/5mL) in C57BL/6 mice induced mechanical hypernociception and increase in MPO activity. Both responses peaked 7h after zymosan injected. The pre-treatment of mice with BN50730 (PAF receptor antagonist, 5, 10 e 20mg/Kg s.c., 30min) inhibited the mechanical hypernociception (42%, 66% e 72%, respectively) and decrease leukocyte migration (63%; 80% e 82% respectively) induced by zymosan. Corroborating, PAF receptor deficient mice injected with zymosan also present reduced mechanical hypernociception (31%, in 7 hours after zymosan injection) and leukocyte migration (66%). **DISCUSSION** These results suggest that PAF mediate zymosan-induced mechanical joint hypernociception and neutrophil influx. **Supported by:** CAPES, CNPq and FAPESP

06.044**A ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL (I/R) CONDICIONA O PULMÃO A GERAR MEDIADORES INFLAMATÓRIOS APÓS CONTATO COM LPS**

Soares, A. L.¹; Nascimento, F. L. L.¹; Cavriani, G.¹; Oliveira-Filho, R. M.¹; Vargaftig, B. B.¹; Tavares de Lima, W.¹ - ¹ICB - USP - Farmacologia

Introdução: Eventos isquêmicos intestinais seguidos de sua reperfusão causam inflamação pulmonar aguda (IPA). Um estímulo secundário pode exacerbar a IPA e desencadear a síndrome de desconforto respiratório agudo (SDRA). Este quadro é consistentemente associado à geração de mediadores inflamatórios. Neste estudo utilizamos fragmentos pulmonares de animais submetidos ou não a I/R incubados com LPS e avaliamos a geração de citocinas, óxido nítrico (NO) e leucotrieno B₄ (LTB₄). **Métodos:** Camundongos C57Bl/6, machos, submetidos a obstrução da artéria mesentérica superior (45 min) seguida de sua reperfusão (2 h). Como controle, utilizamos animais não manipulados (Basal). Fragmentos de pulmão isentos de sangue intravascular foram cultivados em meio DMEM com (+) e sem (-) LPS (100 µg/ml). As amostras foram coletadas 2 e 22 h após. **Resultados:** (média ± DP)

	LTB ₄ (pg/mg)	IL-6(pg/mg)	IL-10(pg/mg)	NO _x ⁻ (µM/mg)
Basal (-)	23,7 ± 4,5	73,1 ± 6,4	20,3 ± 3,8	0,8 ± 0,8
Basal (+)	25,3 ± 6,8	68,2 ± 2,8	48,0 ± 9,1 ^θ	1,5 ± 0,3
I/R (-)	35,6 ± 10,1	126,2 ± 10,0 [*]	28,0 ± 4,8	2,3 ± 0,5 [*]
I/R (+)	120,1 ± 20,8 ^{*,θ}	122,3 ± 10,1 [*]	127,8 ± 32,9 ^{*,θ}	4,3 ± 0,7 ^{*,θ}

* P<0,05 vs respectivo grupo basal. θ P<0,05 vs respectivo grupo não estimulado. **Discussão:** A I/R exacerba a geração pulmonar de NO, LTB₄ e IL-10 decorrente da exposição ao LPS. A aumentada produção de IL-6 após a I/R não é afetada pelo LPS. O aumento dos níveis de LTB₄ e NO pode ser correlacionada com a infiltração neutrofílica e com a alteração microvascular pulmonar observada na SDRA. **Apoio Financeiro:** FAPESP (03/02271-0), CNPq

06.045

SECREÇÃO E COMPOSIÇÃO SALIVAR EM RATOS COM DOENÇA PERIODONTAL

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

Introdução: A doença periodontal (DP) de natureza infecciosa pode influenciar outras (tais como cardíacas ou problemas na gravidez), e a saliva e as glândulas salivares desempenham importante função no controle da microbiota da cavidade oral. Porém, os efeitos da DP sobre a secreção salivar não estão bem estabelecidos. Neste trabalho avaliamos a taxa de salivação e a ocorrência de marcadores de estresse oxidativo em saliva e parótidas de ratos com DP. **Métodos:** A periodontite foi induzida em ratos Wistar através do implante de ligadura ao redor do primeiro molar inferior direito. Após 3, 7 ou 14 dias, a taxa de salivação foi medida, amostras de saliva foram coletadas após estimulação com pilocarpina (1 mg/kg, i.p.) para análise das concentrações de nitrato + nitrito (NOx-) e TBARS (como índice de lipoperoxidação), e as glândulas salivares foram retiradas para análise da expressão protéica de nitrotirosina (NT). **Resultados:** A taxa de salivação nos animais com DP mostrou-se significativamente diminuída em relação ao grupo sham (nos dias 3 e 14), e o conteúdo salivar de TBARS salivar aumentado no dia 14 após a ligadura (4.8 vs.1.8 nmol aldeído/ml saliva) sem alterações significativas de NOx-. Maior grau de expressão de proteínas contendo NT foi observado nas glândulas parótidas dos animais com DP (nos dias 7 e 14) em relação ao grupo sham. **Discussão:** Estes resultados sugerem que a presença de periodontite em ratos resulta em alterações na produção de saliva através da geração de espécies reativas derivadas de oxigênio / nitrogênio. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPESP, CAPES.

06.046

ACÚMULO DE NEUTRÓFILOS E PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA EM ÓRGÃOS DE RATOS SUBMETIDOS A ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL.

Dias, A. A.¹; Bolonheis, S. M.¹; Varriano, A. A.¹; Teixeira, S. A.¹; Carrari, C. C.¹; Costa, S. K. P.¹; Tavares de Lima, W.²; Muscara, M. N.¹ - ¹USP - Farmacologia; ²ICB - USP - Farmacologia

INTRODUÇÃO: Em vista de que a isquemia intestinal seguida de reperfusão (IR) causa lesões teciduais tanto em órgãos locais como distantes, decidimos avaliar a atividade tecidual de mieloperoxidase (MPO; índice do conteúdo de neutrófilos) e de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs; indicador de lipoperoxidação) em órgãos de ratos após IR mesentérica. **MÉTODOS:** A IR intestinal foi realizada em ratos Wistar através da interrupção total do fluxo sanguíneo da artéria mesentérica durante 45 min seguido de 2 h de reperfusão. A seguir, os animais foram sacrificados e amostras de pulmão, baço, rim, estômago, intestino delgado, íleo e cólon foram coletadas para posterior análise de MPO e TBARs. **RESULTADOS:** A atividade de MPO (em U/g tecido) aumentou significativamente como consequência da IR em pulmão (19628 ±1591 vs. 24519±6076; p<0,01), fígado (3638±2135 vs 12544±1999; p<0,01), região lesada do intestino delgado (sham: 7115±1650, IR não lesada: 10401±1802, IR lesada: 19387±4215; p<0,05), íleo (1399±299 vs. 21780±7191; p<0,05) e cólon (3931±1299 vs. 17521±2165; p<0,001). Porém, não houve qualquer diferença no conteúdo tecidual de TBARs entre os grupos. **DISCUSSÃO:** Os nossos resultados mostram que não há evidências de dano tecidual secundário a estresse oxidativo após 2 h de reperfusão, apesar da eficiência do protocolo de IR utilizado para promover acúmulo de neutrófilos nos órgãos afetados de forma mais direta pelo leito mesentérico. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq, FAPESP.

06.047

ESTRESSE OXIDATIVO NO CÉREBRO DE RATOS SUBMETIDOS À ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL.

Varriano, A. A.¹; Bolonha, S. M.¹; Dias, A. A.¹; Coelho, C. F.¹; Gouvea, I. M.¹; Teixeira, S. A.¹; Lepsch, B. L.¹; Scavone, C.¹; Costa, S. K. P.¹; Tavares de Lima, W.¹; Muscara, M. N.¹ - ¹USP - Farmacologia

Introdução: São bem conhecidas as lesões teciduais de órgãos distantes mediadas pelo estresse oxidativo secundário à isquemia e reperfusão intestinal (IRI); porém, os efeitos sobre o SNC são pouco documentados. Neste trabalho, estudamos a influência da IRI em ratos sobre as isoformas de óxido nítrico sintase (NOS), ciclooxigenases (COX), acúmulo de neutrófilos (através da medida da atividade de mieloperoxidase, MPO) e expressão protéica de nitrotirosina (NT) em diversas estruturas encefálicas. **Métodos:** A IRI foi realizada em ratos Wistar através da interrupção total do fluxo sanguíneo da artéria mesentérica superior durante 45 min seguido de 2 h de reperfusão. A seguir, os animais foram sacrificados e amostras de córtex, hipotálamo, hipocampo e cerebelo foram coletadas para as posteriores análises bioquímicas. **Resultados:** Em relação ao grupo Sham, os animais com IRI mostraram aumento na expressão gênica de nNOS no córtex frontal e significativa diminuição da atividade de NOS dependente de Ca^{2+} ($34\pm 7\%$; $p < 0,05$), a qual também apresentou-se menor no hipotálamo ($36\pm 9\%$) e hipocampo ($49\pm 7\%$), mas não no cerebelo ($92\pm 3\%$). Tanto a atividade de MPO como a expressão de NT nas diversas estruturas não foram afetadas pela IRI. **Discussão:** Os resultados sugerem que, pelo menos durante as primeiras 2 h de reperfusão, existem eficientes mecanismos de defesa do SNC frente à IRI, podendo a atividade diminuída de nNOS neuronal ser um deles. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESP

06.048

PAPEL DOS INIBIDORES SELETIVOS DE COX-2 NO DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL EM RATOS

Queiroz Junior, C. M.¹; Pacheco, C. M. F.¹; Caliari, M. V.²; Francischi, J. N.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²UFMG - Patologia

A doença periodontal (DP) é uma condição inflamatória dos tecidos de suporte do dente derivada do acúmulo de bactérias anaeróbias Gram-negativo na região subgengival. Nesse estudo procurou-se avaliar o desenvolvimento da DP em ratos da linhagem Holtzman e o efeito de inibidores seletivos e não-seletivos da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) em seu desenvolvimento. A DP foi induzida pela colocação de um fio de seda esterilizado na região cervical do 2º molar superior esquerdo. O dente do lado oposto não foi ligado e serviu como controle interno do experimento. Os animais foram tratados com celecoxib (12 mg/kg), rofecoxib (0,7 mg/kg), SC236 (12 mg/kg) ou indometacina (2 mg/kg) no 3º, 4º e 5º ou 9º, 10º e 11º dias, e sacrificados no 11º dia após a colocação do fio. Foram determinadas a perda da crista óssea alveolar e perda de inserção do ligamento periodontal (em mm), e acúmulo de células inflamatórias na região gengival ($n^\circ \times 10^3$ céls/mm³) utilizando-se morfometria digital. A administração dos inibidores de COX-2 no início da DP limitou as perdas óssea e de inserção, bem como a migração celular, ao passo que, no fim, os fármacos inibiram apenas o acúmulo celular na região gengival. Concluiu-se que a enzima COX-2, induzida na periodontite experimental em ratos, tem papel essencial no início da DP e que os inibidores seletivos e não-seletivos de COX-2 são eficazes em limitar o desenvolvimento de seus sinais e sintomas. **Apoio Financeiro:** CNPq e FAPEMIG

06.049

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO LOCAL DE AGONISTAS OPIÓIDES NO DESENVOLVIMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL EM RATOS

Pacheco, C. M. F.¹; Queiroz Junior, C. M.¹; Caliari, M. V.²; Rocha, A. O.²; Francischi, J. N.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²UFMG - Patologia

A doença periodontal (DP) é uma condição inflamatória dos tecidos de suporte do dente causada pelo acúmulo de bactérias anaeróbias Gram-negativo na região subgingival. Tem sido descrito que opióides, endógenos e exógenos, contribuem na modulação de respostas inflamatórias. O presente trabalho avaliou o efeito da administração local de agonistas mu e kappa opióides no desenvolvimento da DP em ratos. A DP foi induzida pela fixação de uma ligadura de seda esterilizada na região cervical do 2º molar superior esquerdo. O dente do lado oposto não foi ligado e serviu como controle interno do experimento. Os animais foram administrados, na região subgingival próxima ao dente com a ligadura, com morfina (0.5, 1 e 4 mg/sítio) ou o agonista kappa opióide U-50488 (250 microgramas/sítio) no 3º, 4º e 5º dias e sacrificados no 11º dia após a colocação da ligadura. A perda de inserção do ligamento periodontal e da crista óssea alveolar (em mm) foram avaliadas utilizando-se morfometria digital. Tanto a morfina (1 e 4 mg/sítio) quanto o U-50488 (250 microgramas/sítio) foram capazes de diminuir a perda de inserção do ligamento periodontal e da crista óssea alveolar. Esse efeito parece específico visto que foi parcialmente revertido por um antagonista opióide, a naltrexona. Conclui-se que a ativação de receptores mu e kappa opióides pode-se constituir em um importante alvo para a modulação da DP experimental. **Apoio Financeiro:** CNPq e FAPEMIG

06.050

APOPTOSIS AS AN INFLAMMATION-MODIFYING EVENT

Ramos, G. C.¹; Fernandes, D.²; Charao, C. T.²; Souza, D. da G. de³; Teixeira, M. M.³; Assreuy, J.² - ¹UFSC - Departamento de Farmacologia; ²UFSC - Farmacologia; ³UFMG - Bioquímica e Imunologia

Recently much attention has been drawn not only on the molecular mechanisms underlying apoptosis, but also on the consequences of the clearance of apoptotic bodies by phagocytes. However, this subject has been poorly investigated *in vivo*. The aim of this work was to study the effects of *in vivo* administration of apoptotic cells and phosphatidylserine (PS), a well-characterised component expressed during apoptosis, on the delayed phase of carrageenan (CARR)-triggered mouse paw oedema. Administration of apoptotic, but not formaldehyde-fixed cells (10^7 cells/animal, i.p., 8 h after CARR) significantly reduced paw oedema at 24 h (saline $136,2 \pm 12,3$ ml; fixed cells $114,8 \pm 10$ ml; apoptotic (H_2O_2) cells $72 \pm 9,2$ ml, $P < 0,05$). In addition, PS, but not phosphatidylcholine (PC) liposomes (20-200 mg/Kg, i.p., 8 h after carrageenan) reduced paw oedema in a dose-dependent manner (CE50 ~ 60 mg/Kg). Most importantly however, PS liposomes were effective even when administered 24 h and 48 h *after* CARR (for example 48h: CARR $121,3 \pm 13,2$ ml; CARR+PS 100 mg/Kg $55,1 \pm 7,6$ ml, $P < 0,05$), whereas indomethacin (1mg/Kg, i.p. 24 h after carrageenan) had no significant effects. PS-treated mice also presented decreased levels of Evans Blue leakage (CARR $4,9 \pm 0,6$ mg; PC $4,9 \pm 0,34$ mg; CARR + PS $2,1 \pm$ S.E.M $0,3$ mg, $P < 0,05$) and IL-1beta (saline $91 \pm 15,3$ pmol/mg tissue; CARR $625,4 \pm 61,4$ pmol/mg tissue; CARR+PC $492,5 \pm 52,3$ pmol/mg tissue; CARR+PS $251,6 \pm 30,4$ pmol/mg tissue, $P < 0,05$). Taken together, these data supports the notion that apoptotic cells and PS, but not PC, liposomes have anti-inflammatory effects *in vivo*. This hypothesis might represent an important phenomenon in the natural resolution of inflammation and therefore its better understanding may lead to new therapeutic anti-inflammatory approaches. **Supported by:** CAPES; CNPq; FAPESC and PRONEX.

06.051

IMPACT OF ENVIRONMENTAL POLLUTANT ON MICROVASCULATURE OF MOUSE WITH NORMAL SKIN AND SIX-DAY AIR POUCH

Florenzano, J.¹; Yshii, L. M.¹; Cavriani, G.¹; Muscara, M. N.¹; Costa, S. K. P.¹ - ¹ICB - USP - Farmacologia

Introduction: the injection of air into the dorsal surface of mice provides a cavity in which inflammation can be studied. There is increasing evidence that the elevation of ambient pollutants levels (eg. 1,2-naphthoquinone; 1,2-NQ) is linked to cardiovascular dysfunction and mortality. This study was undertaken to investigate the effect of 1,2-NQ in the normal and six-day air pouch cutaneous microvasculature of mice.

Methods: female and male C57Bl/6 mice (25-30 g) were anaesthetized with urethane (25 % m/v; 100 ml/10g wt; i.p.) or with the mixture of xylazine and ketamine (20 mg/kg + 80 mg/kg). Mice with shaved skin were treated i.v. with ¹²⁵I-BSA and then intradermally (i.d.) injected with 1,2-NQ (1-10 mg/site). After 40 min or 4 h, animals were killed by anaesthetic overdose. Measurement of skin increased vascular permeability was assessed as described (Florenzano et al., 2005; www.prp.usp.br/pibic/congresso). The MPO activity and differential cell counts were performed by standardized methods. Data are mean ± SEM. Statistical test was by ANOVA plus Bonferroni's modified t-test. **Results:** plasma extravasation in response to 1,2-NQ (1 – 100 mg site⁻¹, n = 3) was significantly increased in normal skin after 40 min as compared to its vehicle. After 4 h, the plasma extravasation in response to 1,2-NQ (10 mg site⁻¹; n= 4) was not significantly different from the same dose at 40 min. In the six-day air pouch, 1,2-NQ (10 mg site⁻¹; n= 3) produced a potent plasma extravasation (P<0.05) when compared to the response at 40 min and 4 h. Unlike TNFα (1 pmol site⁻¹; n= 6), 1,2-NQ (10 mg site⁻¹; n= 5) did not produce neutrophil accumulation in the air pouch fluid or skin after 4 h i.d. injection. **Conclusions:** this study demonstrates the relevance of 1,2-NQ to changes in the microvasculature as a basis for classical inflammation. **Acknowledgements:** Barreto, M.A.A.G. provided technical help. **Supported by:** CNPq, CAPES and Fapesp

06.052

PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR PURINÉRGICO P2X3 NA DOR INFLAMATÓRIA DA ATM

Teixeira, J. M.¹; Oliveira, M. C.¹; Parada, C. A.²; Tambeli, C. H.¹ - ¹UNICAMP - Ciências Fisiológicas; ²FMRP - USP - Farmacologia

Considerando que a ativação de receptores P2X localizados na ATM (articulação temporomandibular) de ratos induz nocicepção (Oliveira, et al., 2005), o objetivo deste trabalho foi avaliar o envolvimento do ATP endógeno e do receptor P2X3 no desenvolvimento da hiperalgesia induzida pela injeção de carragenina na ATM. Uma baixa dose de 5-hydroxytryptamina (5-HT; 75µg) foi injetada na ATM de ratos previamente (1h) sensibilizada pela Carragenina (Cg; 100µg) e as respostas comportamentais nociceptivas caracterizadas por coçar a região periarticular e levantar a cabeça reflexamente foram quantificadas por 30 min. através de um cronômetro e somadas como medida quantitativa única de nocicepção. As respostas comportamentais induzidas pela injeção de 5-HT na ATM 1h após a Cg foram significativamente maiores (média±EPM: 87,1±11,3, n=6, teste Tukey, p<0.05) que as induzidas pela injeção isolada de NaCl 0,9% (26,9±7,9, n=6), Cg (28,8±6,7, n=9) ou 5-HT (49,2±9,5, n=6) na ATM. A co-administração do antagonista seletivo do receptor P2X3, TNP-ATP (80µg), com Cg reduziu significativamente a hiperalgesia induzida pela Cg (27,8±2,9; n=6, p<0.05, teste Tukey). Isoladamente, TNP-ATP (42,4±1,8; n=6, p>0,05, teste T) não afetou as respostas comportamentais induzidas pela subsequente injeção de 5-HT (49,2 ± 9,5; n=6) na ATM. O bloqueio de receptores P2X3 diminui a hiperalgesia inflamatória induzida pela carragenina na ATM de ratos. Esses dados indicam que os receptores P2X3 são possíveis alvos para o desenvolvimento de novas drogas analgésicas para o controle da dor inflamatória na ATM. **Apoio Financeiro:** FAPESP

06.053

PERIPHERAL ACTIVATION OF INTRACELLULAR L-ARGININE/NO/cGMP PATHWAY BY FORMALIN INTO THE TMJ OF RATS IS SEXUALLY DIMORPHIC

Clemente, J. T.¹; Oliveira, M. C.²; Parada, C. A.³; Tambeli, C. H.⁴ - ¹Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Ciências Fisiológicas; ²UNICAMP - Ciências Fisiológicas; ³FMRP - USP - Farmacologia; ⁴FOP - UNICAMP - Ciências Fisiológicas

We have previously demonstrated that peripheral activation of the intracellular L-arginine/NO/cGMP pathway significantly reduces formalin-induced nociception into the rat temporomandibular joint (TMJ). The aim of this study was to compare the antinociceptive effect of NO and cGMP in male and female rats. The nociceptive response induced by the injection of formalin into the TMJ of females, stratified into proestrus (high sex hormonal level) and diestrus (low sex hormonal level) phases of estrous cycle, and males was assessed by summing the number of seconds that the animal spent rubbing the orofacial region and flinching the head during 45 minutes. Co-application of the inhibitor of NO-sintase, L-NMMA (450µg) induced a significantly greater increase in the 0.5% formalin-induced nociceptive response in diestrus (55.83%) and proestrus (59.37%) females than in males (15.39%). Co-application of the inhibitor of cGMP, ODQ (32µg) induced a significantly greater increase 0.5% formalin-induced nociceptive response in diestrus females (72.60%) than in proestrus females (22.28%) and males (46.35%). Application of L-NMMA and ODQ into contralateral TMJ did no affect the magnitude of 0.5% formalin-induced nociceptive response. We conclude that NO attenuates TMJ nociception especially in males, which may help explain the lower prevalence of TMJ pain in males than females. Our finding also point out the contribution of sex hormones to the antinociception induced by cGMP into the TMJ. **Supported by:** FAPESP

06.054

ANTIPYRETIC EFFECT OF SODIUM DICLOFENAC ON FEVER MEDIATORS

Martins, J. M.¹; Souza, G. E. P.² - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²FCFRP - USP - Física e Química

Introduction: Sodium Diclofenac (DICLO), a nonsteroidal anti-inflammatory agent, exerts its effects mostly by inhibiting cyclooxygenases 1 and 2. In this study we investigated the effect of DICLO on fever induced by exogenous and endogenous pyrogens. **Methods:** Body temperature (bT °C) was measured every 30 minutes for up to 6 h by radio-telemetry system in male Wistar rats (200g b.w.). DICLO diluted in saline (Sal) was injected i.p. (0,5 ml) 30 min before stimuli. LPS (5µg/kg) was injected i.v. (0,2 ml). IL-1β (3,12ng), TNF-α (250ng), CRF (5µg), PGE₂ (500ng), AA (50µg) and ET-1 (1pmol) were injected i.c.v. (3µl). Control animals received i.p./i.v./i.c.v. injection of Sal. **Results:** DICLO dose-dependently reduced the fever induced by LPS: 3rdh, Sal =1.83±0.11; 0,3mg/kg =1.7±0.03; 1mg/kg =0.1±0.11; 2mg/kg =0.08±0.1; 10mg/kg =0.01±0.09. At 2mg/kg DICLO promoted antipyresis that was not different from the highest doses so this dose was selected. At 2mg/kg DICLO reduced (3rd h) the fever induced by IL-1β: from 1.2±0.18 to 0.33±0.13; TNF-α: from 0.84±0.16 to 0.2±0.12 and ET-1 from 0.68±0.09 to 0.2±0.07 while the fever to CRF, PGE₂ and AA were not altered. DICLO at 2 or 10 mg/kg did not alter the bT of rats (0.06±0.26 and 0.06±0.09, respectively).

Discussion: DICLO, a non-selective COX inhibitor, abolished the fever induced by IL-1β and TNF-α possibly by inhibiting COX-2, since the fever to AA was not altered. The antipyretic effect of DICLO on fever to ET-1 may be related to IL-1 synthesis inhibition since ET-1 induces fever dependent on IL-1 but independent on prostaglandins⁽¹⁾. ¹Fabricio et al., Am J. Physiol 290:R164, 2006. **Supported by:** CAPES, CNPq

06.055

INIBIÇÃO DA RESPOSTA FEBRIL E DA FORMAÇÃO DO TECIDO FIBROVASCULAR E AUMENTO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA MORFINA INDUZIDOS PELA RIBOFLAVINA.

Bertollo, C. M.¹; Costa, K. A.²; Rocha, L. T. S.¹; Oliveira, A. C. P.¹; Nascimento Jr, E. B.¹; Coelho, M. de M.¹
- ¹UFMG - Faculdade de Farmácia; ²UFMG - Produtos Farmacêuticos

Introdução: Riboflavina (B₂) é uma vitamina do complexo B que participa de diversas reações do metabolismo energético. B₂, assim como outras vitaminas do complexo B (tiamina, piridoxina e cianocobalamina), apresenta atividade antiinflamatória. O objetivo do presente estudo foi ampliar a caracterização dos efeitos induzidos por B₂ em modelos de inflamação. **Métodos:** Foram usados camundongos Swiss fêmeas (25-30 g) e ratos Wistar fêmeas (200-250 g). A resposta febril foi avaliada em ratos após a injeção de LPS de *E.coli* (50 mg/kg, iv). A formação de tecido fibrovascular foi induzida por implante sc de disco de algodão na região dorsal posterior de camundongos e avaliada sete dias depois. A interação com morfina foi avaliada no modelo de resposta nociceptiva induzida por formaldeído (0,92%, 20 ml, sc). **Resultados:** B₂ (50, 100 mg/kg, 0 e 2 h, ip) inibiu (34%, 36%) a resposta febril induzida por LPS em ratos. A formação de tecido fibrovascular em camundongos também foi inibida (51%, 60%) por B₂ (50, 100 mg/kg, 2x/dia, 7 dias, ip). O efeito induzido por morfina (2, 4, 8 mg/kg, -30 min, ip) no modelo de resposta nociceptiva induzida por formaldeído em camundongos foi aumentado por B₂ (25 mg/kg, -30 min, ip). **Discussão:** B₂ induziu efeito antiinflamatório e aumentou o efeito antinociceptivo induzido por morfina, efeitos que resultam, provavelmente, de múltiplos mecanismos. Esses resultados podem contribuir para ampliar o uso de B₂ em condições patológicas não associadas a sua deficiência. **Apoio Financeiro:** FAPEMIG, CNPq, CAPES

06.056

ESTUDO HISTOPATOLÓGICO DO MODELO EXPERIMENTAL DE ARTRITE AGUDA E CRÔNICA NA ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR (ATM) DE RATOS INDUZIDA POR ZYMOZAN – AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO (NO).

Silva, L. R.¹; Chaves, H. V.¹; Lima Vale, M.¹; Souza, A. M. B.¹; Albuquerque Ribeiro, R.¹; Brito, G. A. C.² -
¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFC - Morfologia

Introdução:Inflamação e dor na ATM são importantes pela prevalência na população, porém sua fisiopatologia é pouco compreendida. Os objetivos foram desenvolver um modelo experimental de artrite na ATM e investigar a participação do NO. **Métodos:**Utilizamos ratos Wistar fêmeas(160-220g) nos quais se injetou 40 mL de Zy 2mg na ATM esquerda para indução de artrite, sob anestesia com hidrato de cloral a 10%. Os animais foram sacrificados em 6h, 10d e 21d. Foram utilizados inibidores da síntese de NO: L-NAME(100mg/kg i.p.) e 1400W(1mg/kg s.c.) 30min antes da indução da artrite. A análise histopatológica foi utilizada como parâmetro. **Resultados:**Zy 2mg induziu infiltrado celular na membrana sinovial (MS), tecido conjuntivo periarticular, tecido muscular esquelético e espessamento da MS na 6^ªh após indução da artrite. No 10^º dia, o infiltrado celular no tecido conjuntivo periarticular, tecido muscular esquelético e fibrose da MS foram significativamente diferentes em relação ao grupo controle (C). No 21^º dia, foram observados infiltrado celular e espessamento na MS, e pico de fibrose da MS, cartilagem articular, tecido periarticular e disco articular, significativamente diferentes em relação a C. Tanto L-NAME 100mg/kg ($p<0,05$) quanto 1400W 1mg/kg ($p<0,05$) foram capazes de reverter os achados histopatológicos encontrados na fase aguda da artrite.

Discussão: Esses resultados sugerem que o modelo experimental proposto é válido para o estudo da artrite na ATM, e que NO participa de sua fisiopatologia. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.057

AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DA ENZIMA ÓXIDO NÍTRICO SINTASE (NOS) NA MUCOSITE ORAL INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL (5-FU)

Silva, L. R.¹; Leita, R. F. C.¹; Lira, A. M. S.¹; Bellaguarda, E.¹; Macedo, F. D. B.¹; Cunha, F. de Q.²; Ribeiro, R. A.¹; Brito, G. A. C.³ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²USP - FMRP; ³UFC - Morfologia

INTRODUÇÃO: A mucosite induzida por drogas antineoplásicas é um efeito adverso importante decorrente da terapia do câncer. Estudos anteriores de nosso laboratório sugerem a participação de óxido nítrico (NO) na mucosite induzida por 5-FU. **OBJETIVOS:** Demonstrar o envolvimento do NO na fisiopatologia dessa lesão. **MATERIAIS E MÉTODOS:** Avaliamos inicialmente a atividade da NOS em bochechas de hamsters submetidos a mucosite por 5-FU. Avaliamos ainda a expressão da NOS induzida em bochechas de animais submetidos a mucosite oral experimental e tratados com inibidores da NOS. A mucosite oral foi induzida em hamsters pela administração de 5-FU no 1º e 2º dia de experimento (60 e 40 mg/kg, i.p., respectivamente), seguido de trauma mecânico superficial nas bochechas, com o auxílio de uma agulha no 4º dia, sob anestesia com hidrato de cloral a 10%. Os animais receberam salina ou inibidores da NOS, 1400W, N-Nitro-L-Arginina Metil Éster (L-NAME) ou aminoguanidina (AG) por via s.c, 1 hora antes da administração de 5-FU e, diariamente, até o sacrifício, no 10º dia. As mucosas jugais foram excisadas e processadas para imunohistoquímica para NOS induzida e para avaliação de sua atividade pelo ensaio da produção de citrulina. **RESULTADOS:** A mucosite oral induzida por 5-FU resultou no aumento significativo da atividade da NOS, assim como na maior marcação ($P < 0.05$) para NOS induzida por imunohistoquímica quando comparada ao grupo controle normal. As bochechas de hamsters submetidos a mucosite oral experimental e tratados com AG ou 1400W apresentaram diminuição da marcação para NOS quando comparadas aos animais com mucosite oral que não receberam tratamento. Esses resultados apontam para a participação da NOS induzida na fisiopatologia da mucosite oral induzida por 5-FU. **Apoio Financeiro:** CNPQ

06.058

CENTRAL KAPPA AND MU OPIOID MECHANISMS MODULATE SEX HORMONES-INDUCED TEMPOROMANDIBULAR JOINT (TMJ) ANTINOCICEPTION IN RATS.

Fischer, L.¹; Torres-Chavez, K. E.¹; Tambeli, C. H.¹ - ¹FOP - UNICAMP - Ciências Fisiológicas

Naloxone administration in trigeminal subarachnoid space (tsas) reverts antinociception induced by sex hormones in formalin-induced TMJ nociception in rats. However it is not known which opioid receptor subtypes are responsible for this effect. Gonadectomy was performed on male and female Wistar rats. Estrogen (E) or Progesterone (P) was replaced in ovariectomized females (OVX), Testosterone (T) in orchiectomized males (ORX) and vehicle (propilenoglicol) was administered in OVX and ORX. Saline or the antagonists of kappa (nor-BNI, 5µg), mu (CTOP, 60 ng) and delta (Naltrindole, 10µg) opioid receptors was injected (10µl) in tsas and ten minutes later, saline or formalin 1.5% (30µl) was injected into the TMJ. The nociceptive behavior responses were quantified for 45 min and used as a quantitative nociceptive behavior measure (Roveroni, Pain 94: 185, 2001). The data were analyzed by ANOVA and Tukey post-hoc tests ($p < 0.05$). The antinociceptive effect induced by E (278.5 ± 22.1 , $n=7$) and P (244 ± 21.1 , $n=8$) in OVX and T (165.4 ± 19.7 , $n=7$) in ORX rats was blocked by the subarachnoid administration of nor-BNI in OVX (418.7 ± 48.9 , $n=7$ and 383.5 ± 44.4 , $n=6$, respectively) and in ORX (274.6 ± 19.5 , $n=6$). CTOP only blocked the antinociceptive effect induced by T (264.3 ± 18.1 , $n=9$) in ORX, while Naltrindole had no effect. The antagonists did not affect nociception in OVX and ORX. These findings suggest that central kappa opioid mechanisms mediate sex hormones-induced antinociception in the rat TMJ, while mu opioid mechanisms are also mediate T-induced antinociception in ORX rats.

06.059

EXPRESSÃO GÊNICA DE ÓXIDO NÍTRICO SINTASE NEURONAL E ENDOTELIAL EM GENGIVA DE RATOS COM PERIODONTITE: EFEITO DA AMINOGUANIDINA.

Campi, P.¹; Herrera, B. S.²; Martins Porto, R.²; Maia-Dantas, A.¹; Teixeira, S. A.²; Costa, S. K. P.²; Spolidório, L. C.³; Muscara, M. N.² - ¹Instituto de Ciências Biomédicas - Farmacologia; ²USP - Farmacologia; ³UNESP - Patologia

Introdução: As reações inflamatórias contra o biofilme dental causam perdas irreversíveis dos componentes do periodonto, processo conhecido como periodontite. Considerando que o óxido nítrico (NO) formado pelas isoformas constitutivas ou induzível da enzima óxido nítrico sintase (NOS) participa de vários processos fisiopatológicos, o objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão gênica das NOS endotelial (eNOS) e neuronal (nNOS) na gengiva de ratos com periodontite e tratados com o inibidor da NOS induzível (iNOS), aminoguanidina (AG). **Métodos:** Periodontite foi induzida em ratos Wistar anestesiados através de ligadura de algodão posicionada na região cervical do primeiro molar inferior direito (grupo P). No grupo Sham (S), as ligaduras foram imediatamente retiradas. Uma parte dos animais do grupo P foi tratado com AG através da água de beber (200 mg/kg/dia; grupo P+AG) uma semana antes da ligadura e até o momento do sacrifício (3 ou 7 dias após a ligadura), quando amostras de gengiva foram retiradas para análises de expressão gênica de eNOS e nNOS por RT-PCR. **Resultados:** No dia 3 observou-se aumento da expressão gênica de nNOS e eNOS no grupo P em relação ao grupo S, o qual não foi afetado pela AG. No dia 7 após a ligadura, no grupo P (mas não P+AG) manteve-se o aumento da expressão de eNOS em relação ao grupo S. **Conclusão:** Estes resultados mostram que a expressão gênica de eNOS e nNOS é induzida durante a periodontite. A inibição da isoforma iNOS pela AG pode interferir neste processo. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq, CAPES.

06.060

AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DA VIA L-arg/NO/GMPc NA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DA ELETROACUPUNTURA NO PONTO E36 EM MODELO DE NOCICEPÇÃO OROFACIAL EM RATOS

Almeida, R. T.¹; Duarte, I. D.¹ - ¹UFMG - ICB

Objetivos: De acordo com resultados anteriores, a eletroacupuntura no ponto E36 (100 Hz) se mostrou eficaz em produzir antinocicepção orofacial que parece ocorrer pela mobilização de opióides endógenos. Como é sabido que a analgesia opióide pode ocorrer pela ativação do Óxido Nítrico, o objetivo deste trabalho é: avaliar a participação da via L-arg/NO/GMPc nesse modelo de antinocicepção. **Métodos e Resultados:** O limiar nociceptivo orofacial (latência de resposta de retirada/afastamento da face em segundos - s) foi avaliado utilizando o estímulo térmico progressivo (resistência acoplada a cronômetro) na face direita (região das vibrissas) de ratos Wistar, machos, pesando entre 180-220 g (n=5). Para a obtenção da antinocicepção, foi utilizada a eletroestimulação no ponto de acupuntura E36 com 100 Hz de frequência, por 20 minutos. O tempo de avaliação do limiar nociceptivo foi de 180 minutos após o término da acupuntura. A antinocicepção foi revertida pela injeção subcutânea, 10 minutos antes da eletroacupuntura, tanto do inibidor de NOSintase, N-nitro-L-arginina, nas doses de 2 e 3 mg/kg ($6,4 \pm 0,1s$ versus $4,9 \pm 0,1s$ e $4,1 \pm 0,1s$, respectivamente), quanto do inibidor da Guanilil ciclase, Azul de metileno, nas doses de 0,5 e 1 mg/kg ($7,0 \pm 0,1s$ versus $4,8 \pm 0,2s$ e $3,8 \pm 0,1s$, respectivamente). **Discussão:** Nossos resultados indicam, pela primeira vez, a participação da via L-arginina/NO/GMPc no efeito antinociceptivo orofacial da eletroacupuntura no ponto E36 a 100 Hz de frequência. **Apoio Financeiro:** CAPES e CNPq

06.061

ESTRESSE OXIDATIVO EM RINS DE RATOS COM PERIODONTITE INDUZIDA.

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

Introdução: As doenças periodontais podem resultar em alterações sistêmicas agravando ou até induzindo outras situações patológicas. Neste trabalho foi avaliado se rins de ratos com doença periodontal induzida apresentam alterações em alguns marcadores de dano oxidativo. **Material e métodos:** A periodontite foi induzida em ratos Wistar através do implante de ligadura ao redor do primeiro molar inferior direito. Após 3, 7 ou 14 dias, amostras de rim foram coletadas para posteriores análises da atividade de mieloperoxidase (MPO), atividade inibitória de óxido nítrico sintase (NOS), conteúdo de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARs; indicador de lipoperoxidação) e medida da atividade de arginase. **Resultados:** No dia 7 após a ligadura, a atividade renal de MPO apresentou-se significativamente aumentada em relação aos controles (294 ± 86 vs 100 ± 14 U/g; $p < 0,05$). Em todos os tempos estudados, a atividade inibitória endógena (termoestável) de NOS dependente de cálcio mostrou-se aumentada nos animais com periodontite, porém, sem alcançar significância estatística. Não observamos alterações significativas nos conteúdos das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico e na atividade de arginase. **Discussão:** Nossos resultados mostram que a periodontite pode provocar alterações na produção de óxido nítrico e na atividade de MPO nos rins de ratos. Sugerimos que a tendência à inibição pode ser devida à formação de compostos de baixo peso molecular originados da reação do ácido hipocloroso produzido da MPO com a L-arginina (argininas modificadas). **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESP

06.062

ESTRESSE OXIDATIVO EM DIAFRAGMA DE RATOS APÓS ISQUEMIA E REPERFUSÃO INTESTINAL.

Bolonheis, S. M.¹; Varriano, A. A.¹; Dias, A. A.¹; Coelho, C. F.¹; Teixeira, S. A.¹; Gouvea, I. M.¹; Costa, S. K. P.¹; Tavares de Lima, W.¹; Muscara, M. N.¹ - ¹USP - Farmacologia

Introdução: Tanto na sepse como em processos de isquemia e reperfusão intestinal (IRI) é comum o desenvolvimento de falência respiratória, a qual pode ser devida à disfunção contrátil de músculos respiratórios secundária à produção aumentada de espécies reativas de oxigênio / nitrogênio. Assim, decidimos analisar alguns marcadores de estresse oxidativo em diafragma de ratos submetidos a IRI.

Métodos: A IRI foi realizada em ratos Wistar através da interrupção total do fluxo sanguíneo da artéria mesentérica superior durante 45 min seguido de 2 h de reperfusão. A seguir, os animais foram sacrificados e amostras de músculo diafragma foram coletadas para posterior análise da atividade de mieloperoxidase (MPO; indicador de acúmulo de neutrófilos), atividade de óxido nítrico sintase (NOS), quantificação do conteúdo de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS; indicador de lipoperoxidação) e expressão protéica de nitrotirosina (NT) por Western blot. **Resultados:** Em relação ao grupo Sham, os diafragmas dos animais com IRI apresentaram atividades aumentadas de MPO ($0,340 \pm 0,045$ vs. $0,158 \pm 0,056$) e NOS dependente de cálcio ($1,63 \pm 0,38$ vs. $0,62 \pm 0,18$), assim como no conteúdo de TBARs ($12,5 \pm 1,0$ vs. $7,4 \pm 1,0$) e na expressão de proteínas contendo NT de peso molecular aproximados 34, 46, 54, 73 e 93 kDa. **Conclusão:** Os resultados mostram que 2 h de reperfusão após isquemia intestinal é estímulo suficientemente intenso como para induzir uma resposta oxidativa no músculo diafragma envolvendo modificações de proteínas e lipídeos. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESP.

06.063**AVALIAÇÃO DA INFLAMAÇÃO PULMONAR DECORRENTE DA ISQUEMIA/REPERFUSÃO INTESTINAL (I/R) EM ANIMAIS GENETICAMENTE SELECIONADOS**

Victoni, T.¹; Cavriani, G.¹; Suppa, A. P.²; Soares, A. L.¹; Oliveira-Filho, R. M.¹; Ibanez, O. M.²; Vargaftig, B. B.¹; Tavares de Lima, W.¹ - ¹USP - Farmacologia; ²Instituto Butantan - Imunogenética

Introdução: A I/R causa inflamação pulmonar aguda cuja magnitude limitação e resolução depende da geração de mediadores pró e anti-inflamatórios. Tal controle, resultante de mecanismos gerados após estímulo envolve potencial controle genético. Camundongos geneticamente selecionados para alta (AIRmax) ou baixa (AIRmin) reatividade inflamatória aguda constituem, assim relevante modelo para a elucidação de mecanismos operantes na regulação da inflamação pulmonar. **Métodos:** A I/R foi induzida pela obstrução da artéria mesentérica superior por 45 min e, após 4 h de reperfusão, avaliamos a atividade pulmonar de mieloperoxidase (MPO), o número de leucócitos circulantes totais (LC) e de neutrófilos (PMN), e a permeabilidade vascular pulmonar (PV) pelo técnica do corante azul de Evans (AE). **Resultados:** Média ± DP

Grupos	N	MPO (450nm)	PV (µgAE/g)	LC x10 ⁴ /ml	PMN x10 ⁴ /ml
AIRmin	5	53.3±11,4	36.7±7.2	39.67±2,4	4.5±0.7
	5	53,6±12	47.7±17.5	20.2±7,2	7.2±0.2
Basal Sham I/R	7	133.1±19.6*	90.2±3.9*	49,38±2,4	25.5±3.1*
AIRmax	5	82.50±2.5	43.2±13.8	19.0±3,3	2.7±0.4
	5	74.3±6.7	43.2±3.4	29.3±3,4	8.1±2.5
Basal Sham I/R	7	204.5±16,9 ^f	207.9±22.3	77.2±10,4 ^f	45.9±4.3

* $p < 0.05$ vs Sham AIRmin; [·] $p < 0,05$ x sham AIRmax ; ^f $p < 0,05$ x I/R AIRmin.

Conclusão: Os efeitos sistêmicos (mobilização de neutrófilos) e pulmonares (recrutamento celular e extravasamento plasmático) decorrentes da I/R são diferencialmente modulados sendo de maior intensidade em camundongos AIR max.

Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq.

06.064

LIDOCAÍNA E ANÁLOGOS INIBEM A ATIVAÇÃO DE MACRÓFAGOS INDUZIDA POR SÍLICA *IN VITRO*.

Guimaraes, T.¹; Ameixoeira, V.²; Carvalho, V.²; Costa, J. C. S.³; Cordeiro, R. S. B.²; Martins, M. A.²; Silva, P. M. R. e² - ¹Fundação Oswaldo Cruz - Fisiologia e Farmacodinâmica; ²FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica; ³FIOCRUZ - Far-Manguinhos

INTRODUÇÃO: A lidocaína (Lido) é um anestésico local que apresenta propriedades antiinflamatórias importantes. Neste estudo, investigamos o efeito da Lido e dos análogos estruturais JM 24-1 e JMF 2-1, detentores de menor atividade anestésica, sobre a ativação de macrófagos (Mf) por sílica *in vitro*.

MÉTODOS: Mf peritoneais foram obtidos de camundongos Swiss-Webster e incubados com partículas de sílica (1- 24 µg/mL) a 37°C, em atmosfera de 5%CO₂: 95%O₂, por diferentes intervalos de tempo. A partir do sobrenadante das células foi feita análise da liberação de óxido nítrico (NO) pelo método indireto de Griess. O pré-tratamento com Lido e os análogos JM 24-1 e JMF 2-1 (1-1000 µM) foi feito de forma concomitante à estimulação com sílica. **RESULTADOS:** Verificamos que Mf estimulados com sílica apresentaram aumento nos níveis de NO liberado, de forma paralela ao processo de fagocitose das partículas. Resposta máxima foi detectada com a dose de 6 µg/mL e o tempo de 24 h de incubação. Valores de NO aumentaram de $6,9 \pm 0,2$ µM em Mf controles para $35,8 \pm 1,2$ µM (média ± EPM, n=4) ($p < 0.01$) em Mf ativados. O pré-tratamento com Lido e com JM 24-1 e JMF 2-1 inibiu a produção de NO, de forma concentração dependente, em condições onde ambos os análogos apresentaram-se cerca de 100 vezes mais potentes que a Lido.

CONCLUSÃO: Nossos achados mostram que Mf foram sensíveis ao tratamento com Lido e com os análogos JM 24-1 e JMF 2-1 e, indicam que a atividade antiinflamatória da Lido independe de sua atividade anestésica. **Apoio Financeiro:** CNPq, PAPES4/FIOCRUZ

06.065

AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DO OXIDO NÍTRICO NA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO ETANÓLICO OBTIDO DAS RAÍZES DA *HUMIRIANTHERA AMPLA*.

Luiz, A. P.¹; Meotti, F. C.²; Vieira, D. S. C.¹; Guimarães, C. L. S.³; Azevedo, M. S.⁴; Santos, A. R. S.¹ -
¹UFSC - Ciências Fisiológicas; ²UFSM - Química; ³UNIR - Química; ⁴Universidade de Rondônia - Ciências Biológicas

Introdução: A planta *Humirianthera ampla* é um arbusto delgado, da família das *Icacenaceae*, conhecida como “Surucucaína” e utilizado pelos índios da Amazônia como analgésico e antiinflamatório. Dados preliminares demonstraram que o Extrato Etanólico obtido das raízes da *Humirinathera ampla* (EEH) apresenta inibição significativa e duradoura da nocicepção induzida pelo glutamato e sua ação parece envolver tanto o sistema glutamatérgico quanto o opióide. O presente trabalho visa investigar a possível participação do óxido nítrico na ação antinociceptiva do EEH, bem como seu efeito sobre a dor neuropática.

Métodos: Foram utilizados camundongos Swiss (30-40 g n=6-8/grupo) de ambos os sexos. Para verificar o possível envolvimento do óxido nítrico na ação antinociceptiva do EEH, os animais foram pré-tratados com L-Arginina (40 mg/kg, i.p., substrato da óxido nítrico sintase) ou D-Arginina (40 mg/kg, i.p., isômero inativo da L-Arginina) 20 min antes da administração do EEH (30 mg/kg, v.o.). A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada intraplantarmente (i.pl.) com de glutamato (20 mmol/pata, pH 7,0) durante 15 min. A fim de induzir a neuropatia, os animais foram anestesiados com hidrato de cloral (7%, i.p.) e uma ligadura parcial do nervo ciático foi realizada entre 1/3 à 1/2 da porção dorsal do nervo ciático. O limiar da nocicepção mecânica (alodinia) foi avaliado sete dias após a cirurgia através da aplicação do filamento de Von Frey (0,6 g, Stoelting, Chicago, USA), considerando resposta positiva o levantamento da pata operada (frequência de 10 repetições /animal) em diferentes tempos. **Resultados:** O pré-tratamento dos animais (20 min) com L-Arginina reverteu de forma significativa o efeito antinociceptivo do EEH no modelo de nocicepção induzida pelo glutamato. O EEH demonstrou-se eficaz em inibir de forma significativa a dor neuropática, apresentando inibição de $67 \pm 12\%$ na primeira hora após o tratamento. **Discussão:** Estes resultados sugerem que a atividade antinociceptiva do EEH depende, em parte, da inibição da via do óxido nítrico e que sua atividade antinociceptiva estende-se também a dor neuropática. **Apoio Financeiro:** CNPq, FUNCITEC, CAPES, UFSC.

06.066

ESTUDO DO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO ÁCIDO ZOLEDRÔNICO (ZOMETA®) SOBRE A RESPOSTA NOCICEPTIVA EXPERIMENTAL INDUZIDA POR ZYMOSAN

Braga, A. F. F.¹; Cardoso, M. G. M.¹; Cunha, F. de Q.²; Ribeiro, R. A.¹; Lima Vale, M.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²USP - FMRP

Introdução: O ácido zoledrônico (Zometa®) é um bisfosfonato utilizado no tratamento de metástases ósseas. Dados da literatura sugerem um efeito analgésico desse fármaco. **Objetivos:** Avaliar o efeito antinociceptivo do Zometa(ZM) sobre a resposta nociceptiva do zymosan (Zym) através dos testes de contorções abdominais (CA), incapacitação articular(IA) e também o envolvimento de citocinas pró-inflamatórias. **Métodos:** Ratos Wistar pré-tratados, 30 min, com salina (Sal) ou ZM (10-300µg/animal) receberam Zym (intrarticular 1 mg/animal) avaliando-se o tempo de suspensão da pata (TSP) no teste de IA. Camundongos Swiss pré-tratados, 30 min, com Sal ou ZM (10-100µg/kg) receberam Zym (1mg/animal, i.p.) para o teste de CA, sendo a dose de 10mg/kg injetada pelas vias i.p., e.v. ou s.c. Foi feita a coleta de células peritoneais residentes (CPR), para cultura, de animais pré-tratados com essa mesma dose de ZM. No sobrenadante da cultura de células foi feita a dosagem das citocinas (DC) TNF e KC. **Resultados:** Os dados mostram que o ZM(100µg/animal) diminuiu o TSP(-50%, p<0.05) comparado ao grupo Sal+Zym(controle). A via de administração de melhor efeito nas CAs foi a i.p.(-72,37%, p<0.05) e a dose de maior efeito foi a de 30µg/kg(-88%, p<0.05), comparado ao controle. Na DC o ZM inibiu níveis de TNF(-84%,) e KC(-79%, p<0.05) comparado ao controle. **Discussão:** Sugerimos que o ZM possui atividade antinociceptiva no modelo de CA e IA. Possivelmente a inibição da produção de TNF e KC têm relação com o fenômeno. **Apoio Financeiro:** PIBIC-UFC

06.067

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTI-EDEMATOGÊNICO E ANTINOCICEPTIVO DA FUCOIDINA EM CAMUNDONGOS TRATADOS COM CARRAGENINA

Nascimento, A. F. Z.¹; Passos, G. F.¹; Quintao, N. L. M.¹; Medeiros, R.¹; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia

Introdução: A fucoidina (*Fucus vesiculosus*) se liga as selectinas reduzindo o rolamento de leucócitos e a conseqüente migração células para áreas inflamadas. Nesse estudo foram avaliados os efeitos, antiinflamatório e antinociceptivo da fucoidina em animais tratados com carragenina (Cg). **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (30-35 g). Os animais foram tratados com Cg (300 µg/pata). A hipernocicepção mecânica foi avaliada em diferentes intervalos de tempo com a aplicação do filamento de Von Frey (0,6 g), sendo a retirada da pata frente à aplicação do filamento considerada índice de hipernocicepção. O edema de pata foi medido em pletismômetro após diferentes períodos de tempo do tratamento com Cg. A fucoidina (3, 10 ou 30 mg/kg) foi administrada por via e.v. 15 min antes e 12 h após a injeção de Cg. **Resultados:** O tratamento com fucoidina (3, 10 e 30 mg/kg) foi capaz de inibir de forma dependente da dose o edema de pata induzido pela Cg por até 24 h do tratamento (% inibição em 24 h: 4±4, 35±10 e 50±11, respectivamente). Além disso, a hipernocicepção induzida pela Cg foi reduzida de maneira significativa e proporcional a dose empregada pela fucoidina (% inibição em 24 h: 50±9, 61±5 e 68±6, respectivamente). **Discussão:** Estes resultados sugerem que as selectinas apresentam um importante papel na modulação da hipernocicepção e do edema de pata induzidos pela Cg, podendo apresentar papel terapêutico em patologias que envolvam processos inflamatórios e dolorosos, incluindo asma, artrite e colite ulcerativa. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX, FAPESC, CAPES

06.068

PARTICIPAÇÃO DE CANAIS DE POTÁSSIO PERIFÉRICOS NA ANTINOCICEPÇÃO INDUZIDA PELA HEMOPRESSINA

Dale, C. S.¹; Pagano, R. L.¹; Rioli, V.²; Giorgi, R.¹; Ferro, E. S.³ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia; ²Instituto Butantan - LETA-CAT/CEPID; ³ICB - USP - Biologia Celular e Desenvolvimento

Introdução: A hemopressina, um peptídeo derivado da cadeia α da hemoglobina, inibe a hyperalgesia inflamatória induzida por carragenina (Cg) ou bradicina, em ratos avaliados no modelo de pressão de pata. Neste trabalho foi avaliado o envolvimento periférico de canais de potássio no efeito antinociceptivo da hemopressina, sobre a hiperalgesia inflamatória induzida por Cg. **Métodos e Resultados:** A administração oral (0.1-0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$) ou intratecal (1-10 ng/kg) de hemopressina reverteu a hyperalgesia induzida pela carragenina. O pré-tratamento local com 4-aminopiridina, tetraetilamonio (bloqueadores de canais de potássio dependentes de voltagem) ou caribdotoxina (inibidor de canais de potássio ativados por cálcio de alta condutância) não interferiu com o efeito antinociceptivo da hemopressina. Por outro lado, o pré-tratamento com apamina, um bloqueador de canais de potássio ativado por cálcio de baixa condutância, aboliu completamente o efeito da hemopressina. Ainda, o tratamento com glibenclamida, um inibidor de canais de potássio dependente de ATP, reverteu parcialmente o efeito antinociceptivo induzido pela hemopressina.

Discussão: Estes resultados sugerem que o efeito antinociceptivo induzido pela hemopressina é periféricamente mediado pela ativação de canais de potássio dependentes de cálcio de baixa condutância e parcialmente pela ativação de canais de potássio sensíveis a ATP. **Apoio Financeiro:** FAPESP & CNPq

06.069

EFEITOS DIFERENCIAIS DO ÓXIDO NÍTRICO (NO) INALATÓRIO SOBRE O EDEMA DE PATA INDUZIDO PELA INJEÇÃO SUBPLANTAR (SUBCUTÂNEA OU INTRAMUSCULAR) DE CARRAGENINA.

Coelho, C. F.¹; Yshii, L. M.²; Teixeira, S. A.¹; Bolonheis, S. M.¹; Varriano, A. A.¹; Leonardo, P. S. L. M.³; Gouvea, I. M.¹; Lopes-Martins, R. A. B.¹; Souza, H. P. de⁴; Costa, S. K. P.¹; Muscara, M. N.¹ - ¹USP - Farmacologia; ²ICB - USP - Farmacologia; ³UNIVAP - Fisiologia e Farmacodinâmica; ⁴FM - USP - LIM - 51

Introdução: Dependendo da quantidade, cinética e/ou local de produção / ação, o NO pode ter propriedades tanto pró- como anti-inflamatórias. Neste trabalho avaliamos o efeito do NO administrado por via inalatória sobre o edema de pata induzido por injeção suplantar subcutânea (s.c) ou intramuscular (i.m.) de carragenina (Cg) em camundongos. Métodos: Na região subplantar da pata posterior esquerda de camundongos Swiss, foram injetados 300 µg de Cg por via s.c ou i.m., e o volume (mL) foi medido por pletismografia em diferentes tempos durante as 24 h seguintes. Os animais inalaram NO (concentrações e tempos de inalação variáveis) 30 min após a injeção de Cg. Resultados: A inalação de 8.6 ppm de NO durante 10 min reduziu significativamente o edema induzido por Cg por via i.m. (0.116 ± 0.032 na 4ª hora, $p < 0.05$), porém não afetou a resposta à Cg administrada por via s.c. (0.362 ± 0.11 na 4ª hora, $p > 0,05$). A dose de 8.6 ppm de NO em tempo menores de inalação e doses maiores de NO não apresentaram efeito anti-inflamatório. Conclusão: Os resultados sugerem que a inalação de NO em baixas concentrações tem efeito anti-inflamatório frente ao edema de pata induzido pela injeção subplantar de Cg por via i.m. (mas não s.c.). Esta resposta diferencial pode ser devida a diferenças no grau de vascularização dos tecidos afetados. **Apoio Financeiro:** CAPES, FAPESP, CNPq.

06.070

FEVER INDUCED BY INTRAPERITONEAL (I.P.) INJECTION OF *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923 IN RATS.

Longhi, D. T.¹; Soares, D. de M.¹; Figueiredo, M. J.¹; Alves-Filho, J. C.¹; Cunha, F. de Q.¹; Souza, G. E. P.² -
¹FMRP - USP - Farmacologia; ²FCFRP - USP - Física e Química

Introduction: The majority of studies on fever are performed by peripheral administration of pieces of bacterial constituents such as LPS from Gram negative or cell walls of *S. aureus*. However, these models have been contested because injections are usually made in bolus and may not represent the pathophysiological condition of an infectious disease. In order to examine this query we studied the effect of i.p. injection of replicating *S. aureus* on the body (bT) and skin tail (skT) temperatures of rats. **Methods:** *S. aureus* (ATCC 25923) was grown in BHI, centrifuged, washed and diluted in sterile saline (SAL) and i.p. injected in male Wistar rats (200g b.w.). The bT and skT was measured, every 30 min by radio-telemetry and telemetry, respectively. **Results:** I.p. injection of *S. aureus* dose dependently increased bT of rats. The injection of SAL or 10³, 10⁶ and 10⁹ CFU of *S. aureus* did not alter bT of rats (3h: 37,1±0,1; 37,4±0,1; 37,3±0,1; 37,5±0,1 °C, respectively) while the injection of highest doses (CFU) of *S. aureus* induced a long-lasting increase of bT peaking at 2.5h: 10¹²=38.1±0,17; 10¹³=38.5±0,08; 2 x 10¹³=38.45±0,11 °C. I.p. injection of 10¹³ CFU of *S. aureus* induced a decrease in skT of rats (from 33.15±0,1 to 31,9±0,19 °C). **Conclusion:** I.p. injections of *S. aureus* promoted a dose-dependent increase in bT which was accompanied by a thermoregulatory response, the decrease in skT. Therefore it constitutes a suitable model to study fever to Gram-positive bacteria as well as the effect of antipyretics drugs. **Supported by:** CAPES, CNPq

06.071

EFEITO DO VENENO DE *Bothrops moojeni* SOBRE A FAGOCITOSE EM MACRÓFAGOS

Leiguez Jr, E.¹; Zamuner, S. F.¹; Zuliani, J. P.¹; Teixeira, C. F. P.¹ - ¹Instituto Butantan - Farmacologia

Introdução: A fagocitose, efetuada por macrófagos, constitui um processo de internalização de partículas, dependente da interação das mesmas com receptores específicos da membrana celular e representa um evento fundamental da inflamação. É conhecido que os venenos de serpentes *Bothrops* sp. causam reação inflamatória intensa no local de sua injeção. Nesse estudo, avaliou-se o efeito do veneno de *B. moojeni* (VBm), na fagocitose efetuada por macrófagos, mediada pelos receptores β -glucano e de complemento.

Métodos: Os macrófagos foram obtidos da cavidade peritoneal de camundongos *Swiss* machos 96 h após a injeção intraperitoneal de tioglicolato 3%. A viabilidade celular foi mensurada pelo azul de Tripán. A fagocitose, via receptores β -glucano e complemento, foi avaliada *in vitro*, utilizando partículas de zimozan não-opsonizado e opsonizado, respectivamente. **Resultados:** Os índices de fagocitose pelos receptores de β -glucano e de complemento, em cé lulas controles, foram de 19 e 44 %, respectivamente. O VBm, em concentrações de 1,5 e 3,2 μ g/mL, não afetou a fagocitose via receptor de β -glucano. Entretanto, nessas concentrações, o veneno aumentou o índice de fagocitose via complemento em 11 e 18 % ($p < 0,001$), respectivamente. **Discussão:** Os dados indicam a capacidade do veneno de *B. moojeni* ativar, de modo seletivo, a fagocitose em macrófagos, estimulando preferencialmente a via dos receptores de complemento. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES e FAPESP (02/ 01009-7).

06.072

EFFECT OF LOCAL ANESTHETIC AGENTS ON TONGUE, SKIN AND PAW EDEMA INDUCED BY DIEFFENBACHIA PICTA SCHOTT IN VIVO

Dip, E. C.¹; El-Kik, C. Z.²; Ricardo, H. D.²; Bersot, C. D.²; Melo, P. A.² - ¹UFRJ - Farmacologia; ²UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica

Introduction: We have investigated the tongue, paw and skin edema induced by *D. picta* juice in mice and the effect of some local anesthetic agents (benzocaine 20%, lidocaine 10% and bupivacaine 0,5%). **Material & Methods:** Tongue edema was induced by topical application of 0.1 mL of *D. picta* juice and it was evaluated with a digital tachymeter during 2 hours. On the skin edema study, mice received i.v. injection of Evan's blue dye (2.5% solution; 50 mg/kg) 15 min. before the intradermal injection of 0,1 mL of *D. picta* juice. Skin edema was evaluated by measuring the dyed plasma extravasation and accumulation in the skin in a spectrophotometer. **Results:** The tongue edema reached the maximum at 60 min. after topical application of 0,1 mL of *D. picta* crude juice in the control mice, and it was completely inhibited by topical application of benzocaine and partially inhibited by lidocaine (circa of 30%). Preincubation of *D. picta* juice with lidocaine, 2.5 and 10% decrease the skin edema from $42,93\% \pm 12,333\%$ to $99,68 \pm 9,03$ from the control, respectively. Alkaline bupivacaine completely abolished it (n=8 for each group). **Conclusions:** These local anesthetic effects are indicative that the functional integrity of the afferent sensitive fibers and terminal axons could be involved in the genesis of the acute edema and the inflammatory response induced by *D. picta* juice in mice. **Supported by:** CAPES, CNPq, PRONEX, FAPERJ, FUJB-UFRJ

06.073**PARTICIPAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO (NO) NAS AÇÕES DA AMITRIPTILINA SOBRE O EDEMA DE PATA INDUZIDO PELA CARRAGENINA EM RATOS**

Vismari, L.¹; Lazzarini, R.²; Alves, G. J.²; Palermo-Neto, J.² - ¹IP - USP - Neurociências e Comportamento; ²FMVZ - USP - VPT

Introdução: Diversos estudos têm apontado um efeito antiinflamatório para o fármaco amitriptilina. O objetivo deste trabalho é avaliar a participação do NO nas ações da amitriptilina sobre o edema de pata induzido pela carragenina. **Métodos:** Ratos Wistar machos foram pré-tratados com L-NAME, (50 mg/kg, i.p., um inibidor da síntese de NO); com L-arginina (300 mg/kg, i.p., precursor da síntese de NO), ou seus respectivos veículos. Uma hora depois, eles receberam amitriptilina (AMI-10 mg/kg, i.p.) ou salina (SAL-i.p.) e após uma hora a injeção de carragenina 1% na pata esquerda (0,1 mL). As medidas dos volumes das patas foram feitas antes da carragenina e também 1, 2, 3, 4, 6 e 8 horas depois, utilizando um Pletismógrafo (Ugo Basile®, Itália). **Resultados:**

grupos	1h	2h	3h	4h	6h	8h
SAL	0,64±0,14	0,87±0,19	0,86±0,18	0,80±0,16	0,69±0,10	0,55±0,11
AMI	0,50±0,19	0,69±0,27	0,78±0,26	0,71±0,22	0,66±0,16	0,52±0,14
L-NAME	0,51±0,12	0,59±0,29	0,57±0,28	0,54±0,25	0,58±0,19	0,55±0,15
L-NAME/AMI	0,26±0,08	0,22±0,09	0,17±0,06	0,16±0,05	0,19±0,07	0,21±0,10

De acordo com os dados apresentados na tabela, o tratamento com amitriptilina produziu uma redução significativa no edema de pata quando comparado ao grupo salina nos tempos 1 e 2 horas. O tratamento com L-NAME reduziu o edema nos tempos 2, 3 e 4 horas quando comparado ao grupo controle, enquanto o grupo que recebeu L-NAME e amitriptilina apresentou uma redução significativa do edema de pata durante todo o período de observação, quando comparado aos demais grupos ($p < 0,05$). Por outro lado, o pré-tratamento com L-arginina não reverteu as ações da amitriptilina sobre a resposta inflamatória. **Discussão:** Estes dados sugerem uma participação do NO nos efeitos da amitriptilina sobre a resposta inflamatória. No entanto, os principais mecanismos envolvidos neste efeito permanecem por ser elucidados.

Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq

06.074

POSSÍVEL PRESENÇA DE RECEPTORES CANABINÓIDES DO TIPO 2 (CB2) NO ÍLEO ISOLADO DE COBAIA

Ferreira-Alves, D. L.¹; Francischi, J. N.¹; Machado-Silva, L. D. F.¹ - ¹UFMG - Farmacologia

Embora receptores canabinóides do tipo CB1 já tenham sido descritos no trato gastrointestinal humano e de roedores (Pertwee, RG. Gut, 48:859, 2001), evidências farmacológicas sobre a existência de receptores CB2 nesse trato ainda são precárias. Nosso objetivo foi verificar a presença de receptores CB2 na preparação do músculo liso isolado de íleo de cobaia estimulado eletricamente. A preparação foi montada utilizando os seguintes parâmetros de estimulação: sinal de 5,5V e frequência de 0,1Hz fornecidos por dois eletrodos paralelos de platina localizados na extremidade distal do segmento de íleo. Curvas dose-resposta do agonista seletivo CB2 JWH-015 (0,1 – 8,3 microM), de morfina (M; 3,8 – 973,0 nM) e de beta-endorfina (BE; 0,4 - 105,5 nM) foram construídas. M e BE inibiram de maneira dose-dependente as contrações do íleo estimulado (Dose inibitória 50% = 100 e 190 nM, respectivamente). Uma dose aproximadamente 40 x maior do agonista CB2 (Dose inibitória 50% = 7700nM) quando comparada à beta-endorfina foi necessária para provocar o mesmo nível de inibição das contrações, sugerindo que existem receptores canabinóides CB2 no intestino de cobaia. **Financiado por:** CNPq e FAPEMIG

06.075

AN INVESTIGATION INTO A POSSIBLE LINK BETWEEN NEUROGENIC INFLAMMATION EVOKED BY POLLUTANTS IN THE RAT AIRWAYS AND CHANGES IN THE AORTA AND CORPUS CAVERNOSUM FUNCTIONS.

Oliveira, J. F. de¹; Teles, A. M.¹; Teixeira, S. A.¹; Tavares de Lima, W.¹; Muscara, M. N.¹; Costa, S. K. P.¹ - ¹ICB - USP - Farmacologia

Introduction: intra-tracheal (i.tr.) injection of both 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ) and diesel exhaust particules (DEP) induces neurogenic inflammation in the rat airways (Teles, A. M., BPS, Vol3Issue4abst121P, 2005). In this study we have addressed the role of this effect in the functional activity of the isolated corpus cavernosum and thoracic aorta from these animals. **Methods:** either control or capsaicin-treated rats in order to deplete neuropeptides were anaesthetized with ketamine and xylazine and then, intratracheally received DEP (1 mg/kg) plus 1,2-NQ (35 nmol/kg) or vehicle. The changes in the smooth muscle in the rat thoracic aorta (RTA) or corpus cavernosum (RCC) were evaluated 3 h after pollutants injection via force-displacement transducers attached to a PowerLab 400 system. Both RTA and RCC were precontracted submaximally with phenylephrine (FE 1-10 $\mu\text{mol/L}$). **Results:** Tension development in response to FE (1 $\mu\text{mol/L}$) in the RTA treated (150 \pm 16%; n=8) with pollutants was slightly less compared to RTA from vehicle-treated group (179 \pm 5%; n=7). Whereas RTA from pollutants-treated rats exhibited higher responsiveness (with maximal response = 66 \pm 7%; n=7; P<0,05) to acetylcholine concentration-response curve (ACh, 10⁻⁹-10⁻⁴ M) than the control group (46 \pm 3%; n=6), a partial reversion of this effect was observed in capsaicin-treated animals (60 \pm 6%; n=6). Tension development in response to either FE [10 $\mu\text{mol/L}$; 173 \pm 30%; n=5 (treated group) x 187 \pm 26%; n=5 (control group) x 160 \pm 11%; n=6 (capsaicin-treated group)] or maximal response to ACh in the RCC treated with pollutants (51 \pm 6%; n=6), was similar to the group treated with vehicle (46 \pm 4%; n=4), in the presence (63 \pm 6%; n=8), or absence (51 \pm 4%; n=7), of capsaicin. **Conclusions:** these data indicate that DEP and 1,2-NQ-induced acute neurogenic inflammation in the rat airways can account to affect the endothelium-dependent reactivity without interfering with the penile erection. **Reference:** Proceedings of the British Pharmacological Society at <http://www.pA2online.org/abstracts/Vol3Issue4abst121P.pdf>. **Technical assistance:** Maria A. A. G. Barreto.

Supported by: CAPES and Fapesp

06.076

ALODÍNIA MECÂNICA E EDEMA DE PATA INDUZIDOS POR UM ATIVADOR DA PROTEÍNA QUINASE C, PDD: CARACTERIZAÇÃO E COMPARAÇÃO COM AS RESPOSTAS INDUZIDAS PELA CARRAGENINA.

Costa, K. A.¹; Bertollo, C. M.²; Oliveira, A. C. P.²; Rocha, L. T. S.²; Nascimento Jr, E. B.²; Rezende, K. S.² -
¹UFMG - Produtos Farmacêuticos; ²UFMG - Faculdade de Farmácia

Introdução: A ativação da PKC parece ser importante para resposta nociceptiva e para outros aspectos da inflamação. O presente estudo teve como objetivo caracterizar a alodínia mecânica e o edema de pata induzidos pela injeção intraplantar (ipl) de um ativador da PKC, forbol-12,13-didecanoato (PDD), avaliar o papel de diferentes mediadores no desenvolvimento dessas respostas e comparar os resultados obtidos com aqueles induzidos pela carragenina (Cg). **Métodos e Resultados:** A alodínia mecânica e o edema de pata induzidos por PDD ou Cg em ratos Wistar machos foram avaliados com filamentos de nylon (10g) e pletismômetro, respectivamente. A injeção ipl do PDD (0,1mg) ou da Cg (500mg), mas não do 4a-PDD (análogo inativo), induziu alodínia e edema. A alodínia induzida por PDD foi parcialmente inibida pela injeção intraperitoneal (ip) de indometacina (2 ou 4mg/Kg), L-NAME (100mg/Kg) ou pela associação indometacina+L-NAME, mas não por dexametasona (0,25 ou 1mg/Kg) ou rofecoxib (5 ou 10mg/Kg). Por outro lado, a alodínia induzida por Cg foi inibida pela injeção ip de indometacina (2 ou 4mg/kg), rofecoxib (5 ou 10mg/Kg) ou L-NAME (100mg/Kg). O edema induzido pelo PDD foi inibido pela injeção ip de dexametasona (0,25 ou 1mg/Kg) ou L-NAME (50 ou 100mg/Kg), mas não por indometacina (2 ou 4mg/Kg). O edema induzido por Cg foi inibido pela injeção ip de dexametasona (0,25 ou 1mg/Kg), indometacina (2 ou 4mg/Kg), rofecoxib (5 ou 10mg/Kg) ou L-NAME (50 ou 100mg/Kg). Por último, a injeção ipl de indometacina (50 ou 100mg) ou L-NAME (50 ou 100mg) não inibiu a alodínia induzida pelo PDD. **Conclusões:** A injeção i.pl. de um ativador da PKC induz alodínia e edema, respostas que provavelmente resultam da ação de diferentes mediadores. Além disso, essas respostas diferem daquelas induzidas pela Cg, porque as drogas investigadas influenciam diferentemente as respostas induzidas pelos dois estímulos inflamatórios. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPEMIG

06.077

PLUMIERÍDEO (PL) INIBE DOR NEUROPÁTICA E EDEMA EM RATOS

Bortolini, K. A.¹; Malheiros, A.²; Yunes, R.³; Rae, G. A.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UNIVALI - NIQFAR/CCS; ³UFSC - QMC/CFM

Introdução: O presente trabalho avalia os efeitos do PL, um iridóide isolado das partes aéreas da *Allamanda cathartica* que possui potente atividade anti-edematogênica (Bortolini et al.; FeSBE 2005), sobre hipernocicepção orofacial e edema de pata causados por constrição unilateral do nervo infraorbital (CNI) e carragenina (CG), respectivamente. **Métodos:** Ratos Wistar machos (~ 270 g) foram submetidos a CNI ou injetados com CG (500 ug/pata). Quatro ou 20 d após a cirurgia avaliou-se a influência de PL (1 ou 10 ug/kg; v.o.; 30 min antes) sobre a reatividade dos animais a estimulação térmica (frio ou calor) ou mecânica da região de inserção das vibrissas, respectivamente. Nos experimentos com CG, os ratos receberam PL (0,001-1 ug/kg, v.o.; 1 h antes) e alterações de volume da pata foram medidos por pletismometria. **Resultados:** O PL, nas doses de 1 e 10 microgramas/kg, inibiu tanto a hiperalgisia ao frio (resposta reduzida de $31 \pm 3,9$ para $16,5 \pm 2,6$ e $18,5 \pm 3,2$ s em 1 h) quanto ao calor (latência de resposta aumentada de $5,6 \pm 0,6$ para $14,0 \pm 0,9$ e $9,3 \pm 0,5$ em 1 h; N = 6-7), mas não foi capaz de alterar a hipernocicepção mecânica. O PL também inibiu o edema causado por CG, com picos de inibição máxima na 4^o h de 33 ± 7 , 85 ± 5 , 77 ± 5 e $88 \pm 1,7$ % com doses de 0,0001; 0,01; 0,1 e 1 ug/kg, respectivamente. **Conclusão:** O PL, administrado por via oral, apresenta potentes atividades anti-hiperalgésica em um modelo de dor neuropática e anti-edematogênica em ratos. Os mecanismos de ação subjacentes a estes efeitos ainda requerem caracterização. **Apoio Financeiro:** CAPES, PRONEX, CNPq.

06.078

DIMINUIÇÃO DA CONTRATILIDADE VESICAL NA CISTITE HEMORRÁGICA (CH) POR IFOSFAMIDA (IFS) É PARCIALMENTE REVERTIDA POR INIBIDORES DA CICLOOXIGENASE (COX).

Mourao, L. T. C.¹; Macedo, F. Y. B. de¹; Juca, D. M.¹; Magalhaes, P. J. C.¹; Albuquerque Ribeiro, R.¹ -
¹UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução. Avaliamos o efeito de inibidores da COX nas alterações contráteis induzidas por IFS. **Métodos.** Ratos Wistar machos (150-200 g, n=8) foram tratados com IFS (400 mg/kg, ip) ou salina (grupo controle, C). Em outros grupos os animais receberam 1h antes etorocoxib (ERX; 12 mg/kg, v.o.) ou indometacina (IND; 2 mg/kg, s.c.). Outro grupo recebeu MESNA (80 mg/kg, i.p. 0h, 4h, 8h depois de IFS), antagonista da acroleína, utilizado na clínica na prevenção da CH induzida por IFS. 24h após IFS, as bexigas foram retiradas, cortadas em tiras sagitalmente (6 x 2 mm), e mantidas em Tyrode (pH 7.4, 37°C, aerada). Registros foram feitos com transdutores de força e sistema digital com tensão basal=1g. A avaliação da contratilidade foi realizada comparando curvas concentração-efeito para KCl (5 a 120 mM) e carbacol (CCh; 0,001 a 100 mM). As respostas são expressas em *mg* de força por *mg* de massa tecidual. **Resultados.** IFS teve resposta máxima (RM) para KCl e CCh de $47,6 \pm 6,5$ *mg* e $88,4 \pm 19,6$ *mg* respectivamente quando comparados ao C ($114,5 \pm 16,0$ *mg* e $245,3 \pm 31,1$ *mg*, $p < 0,01$). ERX teve RM para KCl ou CCh parcialmente revertida ($81,4 \pm 6,3$ *mg* e $156,4 \pm 15,1$ *mg*, respectivamente, $p < 0,05$). Em IND, a RM para KCl ou CCh foi $90,9 \pm 10,2$ *mg* e $171,2 \pm 16,1$ *mg*, sendo os valores de CCh diferentes de C e IFS ($p < 0,05$). Para o KCl, a RM não diferiu do grupo C mas diferiu de IFS ($p < 0,05$). No grupo tratado com mesna, a RM foi de $164,6 \pm 12,9$ *mg* e $334,9 \pm 19,2$ com RM ao KCl maior que a do grupo C ($p < 0,05$). **Discussão.** IFS diminuiu a resposta contrátil do tecido vesical e os inibidores da COX reverteram parcialmente essa alteração sugerindo que COX participa das alterações motoras vesicais na cistite por IFS. Além disso, o mesna evita a diminuição da contratilidade e apresenta efeito potencializador das respostas contráteis ao KCl. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FUNCAP

06.079

PROVÁVEL PARTICIPAÇÃO DE CITOCINAS INFLAMATÓRIAS NA EXPRESSÃO DE CICLOOXIGENASE-2 (COX-2) NA CISTITE HEMORRÁGICA (CH) INDUZIDA POR IFOSFAMIDA (IFS).

Mourao, L. T. C.¹; Macedo, F. Y. B. de¹; Almeida, P. R. C.²; Baltazar, F.³; Albuquerque Ribeiro, R.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFC - Patologia; ³Universidade do Minho - Escola de Ciências da Saúde

Introdução: Investigamos o papel de citocinas inflamatórias na indução da COX-2 na CH induzida por IFS.

Métodos: Ratos Wistar machos (150-200g, n=6) foram tratados com IFS (400mg/kg, ip), ou salina. Dois outros grupos receberam tratamento 1 h antes da administração de IFS com o inibidor de TNF- α , talidomida (45mg/kg, ip) ou o inibidor de citocinas, pentoxifilina (200mg/kg, ip). CH foi avaliada 24 h após sua indução com IFS pelo peso úmido vesical (PUV) e por análise macroscópica e microscópica (Critérios de Gray) e imunohistoquímica com anticorpo monoclonal para COX-2 (analisada pelos critérios de Wadwha).

Resultados: IFS produziu aumento do PUV, alterações macroscópicas e microscópicas em relação ao controle ($p < 0,05$). O pré-tratamento com talidomida e pentoxifilina reduziu o PUV em 48% e 60% respectivamente. Macroscopicamente houve uma redução significativa do edema, hemorragia e microscopicamente em relação ao grupo com IFS ($p < 0,05$). A expressão de COX-2 pela imunohistoquímica foi marcante no tecido vesical dos grupos que receberam apenas IFS nas células subepiteliais [3(3-3)], parietais [2(1-2)], e endoteliais [1(1-1)], em relação ao grupo controle ($p < 0,05$) sendo reduzida pelo pré-tratamento com talidomida para 1(0-1), 0(0-0), 1(0-1) e pentoxifilina 2(0-2), 0(0-0), 1(0-1) respectivamente para células subepiteliais, parietais e endoteliais ($p < 0,05$). **Discussão:** COX-2 demonstrou ser importante na patogenia da CH induzida por IFS e as citocinas proinflamatórias além de induzir alguns fenômenos inflamatórios são prováveis mediadores na expressão de COX-2. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES e FUNCAP

06.080

ATIVIDADE ANTI-AGREGANTE PLAQUETÁRIA DE NOVAS N-ACILIDRAZONAS PIRIMIDÍNICAS.

Fumian, M. M.¹; Lopes, A. B.¹; Fraga, C. A. M.¹; Barreiro, E. J.¹; Miranda, A. L. P.¹ - ¹UFRJ - Faculdade de Farmácia - LASSBio

Introdução – Uma nova série de derivados *N*-acilidrazônicos (NAH) pirimidínicos foi planejada e sintetizada como candidatos a protótipos de fármacos anti-inflamatórios e analgésicos, baseada no bioisosterismo clássico de anéis e numa série de derivados NAH imidazo-[1,2a]-piridínico (Ribeiro et al, Eur. J. Med. Chem. 33, 225, 1998). Este trabalho teve como objetivo a avaliação preliminar da atividade anti-agregante plaquetária, de forma a inferir uma ação ao nível da cascata do ácido araquidônico (CAA) e considerando o efeito anti-plaquetário já observado para outras NAH (Barreiro et al, Quim. Nova 25, 129, 2002). **Métodos** - A atividade anti-agregante plaquetária foi avaliada in vitro, pelo método turbidimétrico, em PRP citratado de coelho, na agregação induzida por AA (200 µM). Os compostos (n=16) foram testados na concentração de screening de 100 µM (em DMSO). **Resultados** – Dentre os 16 compostos testados, cinco deles inibiram em 100% a agregação induzida por AA (LASSBio 1079, 1080, 1081, 1082 e 1090; n=3-4, *p<0,05). Dois outros compostos apresentaram uma inibição de 40-60% (LASSBio 1083 e 1086). As plaquetas constituem um modelo interessante para avaliar uma ação sobre a CAA, pois quando ativadas por este agonista agregam via formação de TXB₂ pela COX-1 e TXS. **Conclusão** – Os resultados sugerem que algumas destas novas NAH estariam agindo na CAA, predizendo a possibilidade de apresentarem atividades anti-inflamatória e analgésica, como propostas, ressaltando mais uma vez o caráter farmacofórico de NAH para estas atividades além de anti-plaquetárias. **Apoio Financeiro:** FUJB, PRONEX, CNPq.

06.081

PARTICIPAÇÃO DO MASTÓCITO NA REAÇÃO EDEMATOGÊNICA INDUZIDA PELO VENENO DA SERPENTE *Bothrops moojeni* (VBm) EM CAMUNDONGOS.

Nascimento, N. G.¹; Sampaio, M. C.¹; Lima, S. A.¹; Fernandes, C. M.¹; Matsubara, M. H.²; Teixeira, C. F. P.¹
- ¹Instituto Butantan - Farmacologia; ²Instituto Butantan - Unidade de Inflamação

Introdução: O veneno da serpente *B. moojeni* causa edema local grave. Este trabalho visa avaliar a participação dos mastócitos na formação do edema induzido pelo VBm. **Métodos:** Camundongos Swiss machos foram injetados com VBm, via intraperitoneal, i.p., (3mg/animal) ou intraplantar, i.pl., (1mg/pata) para avaliação da desgranulação de mastócitos ou do edema, respectivamente. A desgranulação foi avaliada por contagem de células mesentéricas coradas com azul de toluidina e o edema avaliado por pletismografia. Diferentes grupos de animais foram tratados com composto 48/80 (0,6; 1,0; 1,2 e 2,4mg/kg i.p., em dias consecutivos) ou prometazina (5mg/kg i.p.) 24h ou 30min, respectivamente, antes da injeção i.pl. de VBm. Animais controles receberam salina, em condições semelhantes. **Resultados:** O VBm causou desgranulação de mastócitos após 10 e 30min de sua injeção, significativa em relação ao controle, e um aumento significativo do volume das patas de 15min a 6h, máximo entre 30 e 60min. A depleção de mastócitos pelo composto 48/80 reduziu o edema podal entre 1 e 6h. O pré-tratamento dos animais com prometazina (antagonista H₁ da histamina) causou redução significativa do edema induzido pelo VBm entre 15min e 6h. **Discussão:** Em conjunto, os dados mostram a capacidade do VBm em desgranular mastócitos e indicam que os mediadores liberados por estas células, como a histamina, são relevantes para o desenvolvimento do edema por ele induzido. **Apoio Financeiro:** CNPq e FUNDAP

06.082

MUCOSITE INTESTINAL POR 5-FLUOROURACIL (5-FU) INDUZ UMA PERSISTENTE DISMOTILIDADE GASTROINTESTINAL EM RATOS

Soares, P. M. G.¹; Mota, J. M. S. C.¹; Mota, A. C. L.¹; Brito, G. A. C.²; Santos, A. A.¹; Albuquerque Ribeiro, R.¹; Souza, M. H. L. P.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFC - Morfologia

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS: 5-FU, um antimetabólico utilizado para neoplasias malignas, pode induzir mucosite intestinal que cursa com inflamação, ulceração da mucosa, com sintomas de dismotilidade e com eventos dispépticos. Assim, objetivou-se avaliar o esvaziamento gástrico, o trânsito gastrointestinal e a contratilidade da musculatura gástrica no curso temporal da mucosite induzida por 5-FU em ratos. **MÉTODOS:** Ratos Wistar (250-350g) foram tratados com 5-FU (150 mg/Kg, ip) ou salina (C, ip). O dia da administração foi o d0, os dias experimentais foram d1, d3, d5, d15, d30 após o d0. As porções do duodeno, jejuno e íleo foram obtidos para morfometria e atividade de mieloperoxidase (MPO). Em outro grupo ratos receberam por v.o. (1.5ml) de uma refeição padrão (5% glicose com 0,05g/ml vermelho fenol) no d3 e d15 sendo sacrificados 10, 20 e 30min depois, o conteúdo gástrico (GDR) e dos 5 segmentos intestinais (IDR) (P1, P2, P3, P4 e P5) foram medidos por colorimetria. A resposta mecânica induzida por carbachol (CCh; 10^{-10} - 10^{-4} M) foi obtida utilizando um transdutor de força isométrico e um programa para aquisição de dados (Chart 5.2). **RESULTADOS:** 5-FU induziu redução da razão vilo/cripta para: (duodeno(C)= $3,17 \pm 0,07$, 5-FU= $0,84 \pm 0,17$; jejuno(C)= $2,09 \pm 0,19$, 5-FU= $1,04 \pm 0,29$ e íleo(C)= $1,20 \pm 0,01$, 5-FU= $0,83 \pm 0,09$) com aumento da atividade de MPO (U/mg) (duodeno(C)= $1,85 \pm 0,15$, 5-FU= $12,18 \pm 1,07$; jejuno(C)= $2,40 \pm 0,32$, 5-FU= $11,29 \pm 1,44$ e íleo(C)= $1,39 \pm 0,19$, 5-FU= $10,09 \pm 2,01$), com efeito máximo no d3 e recuperação no d15. No d3 houve aumento do GDR (%), $p < 0,05$) no tempo 10 (C= $41,41 \pm 5,40$, 5-FU= $75,60 \pm 6,20$), 20 (C= $42,19 \pm 4,37$, 5-FU= $88,71 \pm 10,62$) e 30 (C= $29,02 \pm 10,28$, 5-FU= $76,15 \pm 12,17$). No d15 observou-se aumento do IDR em 10min (P1), diminuição do GDR em 20 (C= 42%, 5-FU= 26%) e 30min (C= 33%, 5-FU= 20%) com aumento do IDR em P3 para os dois tempos. 5-FU induziu hipercontratilidade no estômago (C(%)= $202,63 \pm 13,19$, 5-FU(%)= $290,78 \pm 36,17$) e duodeno (C(%)= $27,53 \pm 7,51$, 5-FU(%)= $89,37 \pm 20,99$) na presença de (CCh 10^{-5} M) no d3. Esse achado de hipercontratilidade foi mantido no d15 com diferença estatística a partir da concentração de CCh 10^{-10} M com efeito máximo na concentração de 10^{-4} M (C(%)= $201,18 \pm 22,85$, 5-FU(%)= $282,55 \pm 23,83$). **CONCLUSÕES:** Mucosite intestinal induzida por 5-FU provoca uma dismotilidade persistente na fase aguda da lesão e na fase pós-inflamatória da mucosa. Podemos inferir que os sintomas dispépticos associados ao 5-FU são decorrentes de alterações motoras, que podem persistir mesmo após a recuperação da mucosa intestinal. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.083

EFEITO DOS VENENOS DE *Bothrops jararaca* (VBj) E DE *Crotalus durissus terrificus* (VCdt) SOBRE A LIBERAÇÃO DE PROSTAGLANDINAS (PGs) E EXPRESSÃO DE CICLOOXIGENASES (COXs).

Moreira, V.¹; Zamuner, S. R.²; Souto, P.¹; Wallace, J. L.²; Teixeira, C. F. P.¹ - ¹Instituto Butantan - Farmacologia; ²University of Calgary - Canada

Introdução: As serpentes Bj e Cdt são responsáveis pelo maior número de acidentes no Brasil. O VBj causa uma complexa reação inflamatória no local da picada, enquanto o VCdt não produz efeito local. Os mecanismos envolvidos nesse antagonismo de efeitos são desconhecidos, particularmente em relação à liberação de PGs. Este estudo visa comparar a capacidade do VBj e VCdt induzirem a liberação das PGE₂ e PGD₂ e a expressão das COX-1 e 2 em leucócitos peritoneais de camundongo. **Métodos:** O VBj e o VCdt (250 mg/Kg e 25 mg/Kg, respectivamente) foram injetados via i.p., em camundongos Swiss machos. Após 1, 3, 6 e 12 h da administração, fez-se o lavado peritoneal. No precipitado de leucócitos, analisou-se a expressão das COX-1 e 2 por *western blot* e no sobrenadante a dosagem imunoenzimática de PGE₂ e PGD₂. **Resultados:** O VBj, mas não o VCdt, induziu a expressão de COX-2 em 12 h. Ambos os venenos não afetaram a expressão protéica de COX-1. O VBj induziu a liberação de PGD₂ aos 30 minutos e PGE₂ entre 3 e 12 h. O VCdt não alterou os níveis basais desses mediadores. **Discussão:** O VBj induziu a liberação de PGD₂ e PGE₂ com perfis temporais diferentes. A produção tardia de PGE₂ está relacionada à ativação de via COX-2 e a produção inicial de PGs pode dever-se ao aumento da atividade de COX-1. O VCdt não estimulou a liberação desses mediadores e nem afetou as vias COX-1 e COX-2. Estes achados refletem os diferentes efeitos regulatórios desses venenos no processo inflamatório. **Apoio Financeiro:** FAPESP e CNPq.

06.084

EFEITO ANTINOCICEPTIVO ESPINHAL DA TOXINA PnTx 3.6 ISOLADA DO VENENO DA *Phoneutria nigriventer* EM ROEDORES

De Souza, A. H.¹; Pinheiro, F.²; Cordeiro, M. N.³; Richardson, M.³; Ferreira, J.²; Gomez, M. V.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²UFSM - Química; ³Fundação Ezequiel Dias - Farmacologia

Introdução: A transmissão da dor em nível espinhal é dependente da estimulação de canais de cálcio tipo N (VGCC-N). Estudos prévios demonstraram que a PnTx 3.6 é bloqueadora seletiva de VGCC-N. O presente estudo avalia a atividade antinociceptiva da PnTx 3.6 em roedores. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar e camundongos Suíços, adultos e machos. No teste da nocicepção por formalina, ratos receberam por via intratecal (i.t.) PnTx3.6 (10-200 pmol/sítio) ou PBS (10 mL/sítio) 0,17-24 horas antes ou 10 minutos depois da injeção intraplantar de formalina 2,5%. No teste da placa quente, camundongos receberam PBS (5 mL/sítio, i.t.) ou a PnTx 3.6 (100 pmol/ sítio, i.t.), 30-240 minutos antes da exposição a placa (55±0.1°C).

Resultados: A PnTx 3.6 (67 pmol/sítio) produziu antinocicepção na 1ª fase do teste da formalina quando pré-administrada 3 horas antes (inibição-I=75±13%) ou na 2ª fase administrada 1 e 3 horas antes (I=54±17 e 69±10). O pós-tratamento com a PnTx 3.6 exerceu antinocicepção dose-dependente com DI₅₀ de 50,2 (25,4-75,1) pmol/sítio e I máximo de 87±5%. Já no teste da placa quente, a toxina causou antinocicepção 1 e 3 horas antes de sua administração, com I de 71±9 e 82±8%. **Discussão:** A PnTx 3.6 apresentou uma potente atividade antinociceptiva espinhal em modelos de nocicepção térmica e química em roedores. Assim, a PnTx 3.6 poderia ser útil no tratamento de desordens dolorosas. **Apoio Financeiro:** FAPEMIG, FAPERGS, CNPq.

06.085

INFLAMMATION MARKERS AND MECHANICAL ALLODYNIA FOLLOWING CARRAGEENAN-INDUCED ARTHRITIS OF THE RAT TEMPOROMANDIBULAR JOINT

Denadai-Souza, A.¹; Teixeira, S. A.¹; Yshii, L. M.¹; Ribela, M. T. C. P.²; Spolidório, L. C.³; Casatti, C. A.⁴; Costa, S. K. P.¹; Muscara, M. N.¹ - ¹ICB - USP - Pharmacology; ²IPEN-CNEN - Biotechnology; ³FOAr - UNESP - Pathology; ⁴FOA - UNESP - Basic Sciences

Introduction: Inflammation of the temporomandibular joint (TMJ) is a frequently observed clinical situation associated to persistent pain. The aim of the present study was to characterize the time-course of carrageenan (Cgn)-induced arthritis (CIA) in the rat TMJ. **Methods:** CIA was induced by a single intra-articular administration of 0,5 mg of Cgn into the left TMJ. At selected time-points over the following 3 weeks, mechanical allodynia was estimated by measuring the head-withdrawal threshold using a novel operant digital testing device (Insight, Ribeirão Preto, SP, Brazil). Myeloperoxidase (MPO) activity in synovial fluid was measured as an index of neutrophil accumulation, and plasma protein extravasation in the TMJ was determined by the accumulation of ¹²⁵I-albumin. The results were expressed as the mean ± SEM and were compared by ANOVA and Bonferroni's modified *t*-test. **Results:** Plasma protein extravasation significantly increased by ~102% (with respect to the contralateral side) 4 and 12 h after Cgn ($p < 0.01$), peaked at 24-48 h (~184%, $p < 0.001$) and decayed after 72 h (~128%, $p < 0.01$). MPO activity was significantly increased 4 h after Cgn ($p < 0.01$), reached its maximum at 12 h ($p < 0.01$) and returned to control values after 24 h. Mechanical allodynia started to develop 4 h after Cgn ($p < 0,05$), peaked between 12 and 24 h ($p < 0,01$), decreased at 48 and 72 h ($p < 0,05$) and returned to basal values at day 14. **Discussion:** These data show that neutrophil accumulation into the TMJ occurs within the first hours after Cgn administration, while both plasma protein extravasation (oedema) and mechanical allodynia persist for the next 3 days. **Acknowledgments:** I.M. Gouvea and M.A.A.G. Barreto for the technical help. **Supported by:** CNPq, CAPES and FAPESP

06.086

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA GLUTAMATÉRGICO E CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS NA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE *Polygala sabulosa* EM CAMUNDONGOS

Jacques, A. V.¹; Ribas, C. M.²; Meotti, F. C.³; Nascimento, F. P.⁴; Soldi, C.⁵; Pizzolatti, M. G.⁵; Farina, M.⁶; Santos, A. R. S.⁷ - ¹UFSC - Fisiologia; ²UFSC - CCS; ³UFSC - Química; ⁴UFSC - Farmacologia; ⁵UFSC - Química; ⁶UFSC - CCB; ⁷UFSC - Ciências Fisiológicas

Introdução: Nosso grupo demonstrou, recentemente, que o extrato hidroalcoólico da *Polygala sabulosa* (EHPS) apresenta atividade antinociceptiva no modelo das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Em vista disso, o objetivo deste trabalho foi verificar a ação do EHPS na nocicepção induzida pela injeção intraplantar (i.pl.) de glutamato e injeção intratecal (i.t.) de agonistas dos receptores glutamatérgicos, substância P (SP), capsaicina, interleucina 1beta (IL-1b) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF-a) em camundongos. **Materiais e 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 com glutamato (20 mmol/pata) durante 15 min. Em outra série de experimentos, a nocicepção foi induzida pela injeção i.t. de glutamato (175 nmol/sítio, 3 min), AMPA (135 pmol/sítio, 1 min), N-metil-D-aspartato (NMDA, 450 pmol/sítio, 5 min), cainato (110 pmol/sítio, 4 min), trans-ACPD (50 nmol/sítio, 15 min), SP (100 pmol/sítio, 6 min), capsaicina (100 pmol/sítio, 6 min), IL-1b (0,1 pg/sítio, 15 min) e TNF-a (1 pg/sítio, 15 min), sendo avaliado o TLM dos membros posteriores (patas posteriores, cauda e abdômen). **Resultados:** A administração prévia (1 h, via oral) do EHPS (100 – 1000 mg/Kg) reduziu o TLM induzido pela injeção i.pl. de glutamato com DI₅₀ de 530,26 (416,67 – 674,81) mg/kg e inibição de 79±6%. O EHPS (500 mg/kg, v.o.) também reduziu de forma significativa o TLM induzido pela injeção i.t. de TNF-a (75±9%), IL-1b (90±5%), glutamato (44±7%), NMDA (55±4%), AMPA (38±10%) e cainato (61±7%). Porém, não inibiu a nocicepção induzida pela injeção intratecal de trans-ACPD, SP e capsaicina. **Discussão:** Estes resultados mostram que o EHPS possui atividade antinociceptiva tanto em nível periférico quanto central, uma vez que reduziu o TLM induzido pela injeção i.pl. e i.t. de glutamato. Além disso, o mecanismo de ação antinociceptiva do EHPS não está completamente esclarecido, mas parece envolver a participação do sistema glutamatérgico (receptores ionotrópicos) e citocinas pró-inflamatórias (IL-1b e TNF-a). **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESC, UFSC

06.087

ENVOLVIMENTO DOS NEUROPEPTÍDEOS NAS RESPOSTAS NOCICEPTIVAS E INFLAMATÓRIAS INDUZIDAS PELA TRIPSINA EM CAMUNDONGOS.

Paszczuk, A. F.¹; Quintao, N. L. M.¹; Campos, M. M.²; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²PUC - RS - Faculdade de Odontologia

Introdução: A tripsina é uma protease capaz de induzir respostas nociceptivas e inflamatórias através da ativação dos receptores ativados por proteinases do tipo 2 (PAR-2). O presente estudo analisa a participação dos neuropeptídeos, substância P (SP), neurocinina A (NKA), neurocinina B (NKB) e do peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP) na inflamação e na nocicepção espontânea induzidas pela tripsina na pata de camundongos. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados camundongos suíços machos (20-30 g, N=5-8). A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo (s) em que o animal permaneceu lambendo ou mordendo a pata após a injeção intraplantar de 20 µl de tripsina (300 mg/pata) durante 10 min. A resposta nociceptiva foi significativamente inibida pela administração endovenosa dos antagonistas seletivos dos receptores para SP, FK 888 (1 mg/kg), NKA, SR 48968 (1 mg/kg), NKB, SR 142801 (3 mg/kg) e CGRP, CGRP₈₋₃₇ (300µg/kg), com inibição de 41±8%, 60±3%, 46±9% e 35±5%, respectivamente. O edema de pata foi caracterizado pelo aumento do volume da pata após a injeção de 20 µl de tripsina (30 µg/pata), com pico máximo entre 20 e 30 min. A redução do edema foi observada após a administração dos mesmos antagonistas citados acima, com inibições de 39±6%, 48±10%, 41±5% e 58±4%, respectivamente. **Discussão:** Os resultados demonstram que as respostas nociceptivas e inflamatórias induzidas pela injeção i.pl. de tripsina parecem envolver, pelo menos em parte, a ativação dos receptores para neuropeptídeos. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, PRONEX, FAPESC

06.088

ANÁLISE DO MECANISMO DE AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DA *SOLANUM ACANTHODES* Hook f.

Luiz, A. P.¹; Bento, A. F.²; Marcon, R.¹; Azevedo, M. S.³; Santos, A. R. S.¹ - ¹UFSC - Ciências Fisiológicas; ²UFSC - Farmacologia; ³UNIR - Ciências Biológicas

Introdução: O extrato etanólico obtido do fruto da *Solanum acanthodes* (EES) apresentou efeito antinociceptivo em modelos de nocicepção química em camundongos. Este trabalho visa avaliar a possível participação dos sistemas glutamatérgico, opióide e da substância P (SP) na antinocicepção do EES em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados Camundongos Swiss fêmeas (30-40 g, n=6-8/grupo). Para a análise da ação do sistema opióide os animais foram pré-tratados com naloxona (1 mg/kg, i.p.) e analisados na nocicepção induzida pelo glutamato (10 mmol/pata). O sistema glutamatérgico e a SP foram investigados através do pré-tratamento dos animais com o EES (10 mg/kg) pela via oral, 60 min antes da injeção intratecal de glutamato (175 nmol/sítio, 3 min), NMDA (450 pmol/sítio, 5 min), cainato (110 pmol/sítio, 4 min), AMPA (135 pmol/sítio, 1 min), trans-ACPD (50 nmol/sítio, 15 min) e substância P (0,1 nmol/sítio, 6 min).

Resultados: O efeito antinociceptivo do EES na dor induzida pelo glutamato não foi revertida pela naloxona. Contudo, o EES causou redução significativa da nocicepção induzida pela injeção intratecal de glutamato, NMDA, Cainato e Substância P, com inibições de 59±13, 47±9, 13±4 e 45±12%, respectivamente.

Discussão: Estes resultados demonstram que o EES exerce seu efeito antinociceptivo, em parte, por interação com o sistema glutamatérgico via receptores ionotrópico (NMDA e cainato) e com o receptor de SP (NK1), mas não envolve o sistema opióide. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPESC, CAPES, UFSC.

06.089

ESTUDO DO EFEITO DO AGENTE ANTITUMORAL PACLITAXEL (TAXOL®) SOBRE PRODUÇÃO DE CITOCINAS NOCICEPTIVAS EM MODELOS EXPERIMENTAIS

Braga, A. F. F.¹; Cardoso, M. G. M.¹; Cunha, F. de Q.²; Ribeiro, R. A.¹; Lima Vale, M.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²USP - FMRP

Introdução: Dados prévios demonstram que o Taxol (TX) amplifica a atividade nociceptiva do zymosan (Zym) nos modelos de contorções abdominais(CA) e incapacitação articular (IA). **Objetivos:** Avaliar o papel de citocinas pró-inflamatórias na amplificação da atividade nociceptiva do Zym pelo TX nos modelos de CA e IA. **Método:** Em camundongos Swiss machos pré-tratados com salina (Sal), veiculo (Vc), ou TX(8 mg/kg;I.P.), foi injetado Zym(1mg/animal; I.P.) ou Sal 15 min antes de coleta de células peritoneais (CP) para cultura em RPMI. No sobrenadante de cultura (SC) foi feita a dosagem de citocinas (DC) por ensaio imunoenzimático ou a centrifugação e filtração para injeção I.P. em animais avaliando-se o numero de CAs. Foi realizada DC em liquido articular (LA) coletado de joelho de ratos Wistar pré-tratados com Sal, Vc ou TX(8mg/kg) e estimulado com Zym (1mg.I.A.). **Resultados:** A DC tanto no LA como no SC tiveram a predominância da produção de TNF. O grupo pré-tratado com TX+Zym obteve um aumento da produção de TNF(216,37% no SC e 138,98% no LA, p<0,05) e o maior número de CAs também foi no grupo injetado com SC de animais tratados com TX+Zym(250%, p<0,05) ambos em comparação aos grupos pré-tratados com Vc+Zym. **Discussões:** Sugere-se que a ação potenciadora do TX sobre a atividade nociceptiva do Zym, observado em trabalho préviom possivelmente é mediada pelo aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, particularmente o TNF resultante da estimulação de CP residentes e células articulares. **Apoio Financeiro:** PIBIC-UFC

06.090

INCAPACITAÇÃO ARTICULAR INDUZIDA PELA METALOPROTEINASE BaP1, ISOLADA DO VENENO DE *Bothrops asper*, EM RATOS.

Fernandes, C. M.¹; Leite, A. C. R. M.²; Rocha, F. A.²; Gutiérrez, J. M.³; Teixeira, C. F. P.¹ - ¹Instituto Butantan - Farmacologia; ²FM - UFC - Medicina Clínica; ³Universidade da Costa Rica - Instituto Clodomiro Picado

Introdução: Metaloproteinases são componentes relevantes em venenos viperídeos e exercem efeitos inflamatórios locais. Estas enzimas são homólogas a metaloproteinases de mamíferos, encontradas em níveis elevados em artrites. Neste trabalho investigou-se o efeito hiperalgésico da metaloproteinase BaP1, na articulação de ratos e a participação de PGE₂ nesse efeito. **Métodos:** Ratos Wistar machos receberam injeção intra-articular (i.a.) de BaP1 ou albumina bovina (BSA-controle) (0.025 - 0,30mM). Decorridos 30min a 6h, avaliou-se a incapacitação articular, pelo método da roda giratória e a produção de PGE₂, por ensaio imunoenzimático. Ainda, grupos de animais foram tratados com indometacina (4mg/Kg) ou seu veículo (controle) antes da injeção i.a. de BaP1 ou BSA e foi avaliada a incapacitação articular. **Resultados:** A BaP1 causou incapacitação dos animais, entre 1 e 6h, de modo independente da concentração. Adicionalmente, a BaP1 causou aumento significativo da concentração de PGE₂ na cavidade articular, em todos os períodos de tempo estudados. O pré-tratamento dos animais com indometacina reduziu significativamente a incapacitação causada pela BaP1, na 3^a h de sua injeção. **Discussão:** A BaP1 é capaz de induzir incapacitação e liberação de PGE₂ na articulação de ratos após sua injeção. A PGE₂ deve contribuir para a hipernocicepção induzida pela BaP1 nessas articulações. **Apoio Financeiro:** FAPESP (03/08529-9)

06.091

THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF BUDLEIN A SESQUITERPENE LACTONE DEPENDS ON THE INHIBITION OF CYTOKINE RELEASE AND ACTION

Valerio, D. A. R.¹; Verri Jr., W. A.¹; Cunha, T. M.¹; Arakawa, N. S.²; Da Costa, F. B.²; Parada, C. A.¹; Ferreira, S. H.¹; Cunha, F. de Q.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²FCFRP - USP - Ciências Farmacêuticas

INTRODUCTION Pharmacological activities of some medicinal plants are attributed to their contents of sesquiterpene lactones including Budlein A that inhibit NFκB. The present study investigated the anti-inflammatory activity of Budlein A. **METHODS** Swiss mice were pre-treated with vehicle or Budlein (v.o. 1-10mg Kg⁻¹, 30min) before i.pl. or i.p. stimulus injection. The activity was investigated using the following tests: writhing test, electronic pressure meter paw test, cytokine measurement, paw oedema, myeloperoxidase (MPO) assay and neutrophil migration to the peritoneal cavity. Results had been evaluated 3h after the stimulation. **RESULTS** Budlein inhibited in a dose (5-10mg Kg⁻¹)-dependent manner the acetic acid-induced writhes, carrageenan (Cg-100μg paw⁻¹)-induced mechanical hypernociception and paw oedema. Furthermore, Cg(500μg)-induced neutrophil migration to peritoneal cavity, MPO activity, Cg(100μg)-induced release of TNF-α, KC and IL-1β in the mice paw tissue and cytokines (TNF-α 100pg, IL-1β 1ng or KC 20ng paw⁻¹) but not the final mediators dopamine (10mg) and PGE₂(100ng)-induced mechanical hypernociception were inhibited. **DISCUSSION** This study demonstrated that Budlein inhibits the inflammatory signs likely by a mechanism related to the inhibition of cytokines release and action. Thus, Budlein A might be a useful orally active drug to control inflammatory conditions involving hypernociception, oedema and neutrophil migration. **Supported by:** CNPq

06.092

EFEITO ANTINOCICEPTIVO E ANTI HIPERALGESICO DO EXTRATO ETANÓLICO DE *Melissa officinalis* EM ROEDORES

Guginski, G.¹; Martins, D. F.²; Massaro, M.²; Ferreira, V. M. M.³; Matos, R. W. M.³; Santos, A. R. S.² -
¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - Fisiologia; ³UnB - Farmacologia

Introdução: A *Melissa officinalis* é uma planta que apresenta várias atividades farmacológicas; tais como sedativo, antioxidante e antiviral (herpes simplex) além de melhorar das funções cognitivas (Kennedy, DO *et al*, NPP, 28, 1871, 2003). No presente trabalho avaliou-se o possível efeito antinociceptivo e anti-hiperalgésico do extrato etanólico de *Melissa officinalis* (EEMO) em vários modelos de nocicepção em roedores. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (25-30 g, n=6-8 por grupo) e ratos Wistar (180-200g, n=6-8 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) durante 15 min; com formalina (2,5%) durante os primeiros 5 min (fase neurogênica) e dos 15 – 30 min (fase inflamatória) e pelo número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (AA 0,6%, i.p.). A hiperalgesia produzida pela administração i.pl. de bradicinina (BK) (3nmol/pata), PMA (10nmol/pata) e PGE₂ (10nmol/pata) foi avaliada pela aplicação de força mecânica (HM) e pela incidência de um feixe de luz (calor, HT) usando os aparelhos Randall-Selitto e Hargreaves (Ugo Basile. Milan, Itália). **Resultados:** A administração do EEMO (3 – 300 mg/kg) pela via oral, 1 h antes do teste, reduziu o TLM induzido pelo glutamato [DI₅₀ = 195,54 (146,37-261,21) mg/kg e inibição de 62±5%] e o TLM induzido pela formalina somente na segunda fase (inibição 48±5%, na dose de 100 mg/kg). O tratamento dos animais com o EEMO também foi capaz de reduzir o número de contorções abdominais induzidas pelo AA, com DI₅₀ de 241,65 (203,92-286,37) mg/kg e inibição de 52±5%. O EEMO inibiu completamente a HM induzida pela PGE₂ e PMA e reduziu em 59±10% a HM induzida pela BK, com DI₅₀ de 32,0 (29,1–34,9), 29,0 (27,3–30,8) e 94,7 (85,2–104,2) mg/kg, respectivamente. O EEMO reduziu em 83±2%, 54±12% e 83±2% a HT induzida por PGE₂, PMA e BK, respectivamente, com DI₅₀ de 19,4 (16,7-22,1), 288,9 (254,2–323,6) e 27,1 (26,5–27,6). **Conclusão:** Os dados do presente estudo estendem os dados anteriores e mostram claramente que o EEMO apresenta significativo efeito antinociceptivo e anti-hiperalgésico nos modelos testados. Além disso, estudos estão em andamento visando caracterizar o mecanismo de ação bem como isolar os princípios ativos do EEMO. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESC, UFSC.

06.093

AÇÃO ANTIINFLAMATÓRIA DO VENENO DE SERPENTES *Crotalus durissus terrificus* (VCdt) EM CAMUNDONGOS.

Nunes, F. P. B.¹; Sampaio, S. C.¹; Sousa-E-Silva, M. C. C.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia

Introdução: O VCdt induz uma discreta resposta inflamatória e inibe a funcionalidade de macrófagos. Recentemente, demonstramos que o VCdt via s.c. no pré-tratamento (1h, 7, 14 ou 21 dias) e no pós-tratamento (1h), inibe eventos vasculares e celulares da resposta inflamatória induzida por carragenina (Cg). Neste estudo, foi investigado o efeito do pré ou pós-tratamento com VCdt por v.o. sobre a migração celular induzida pela Cg, e o efeito antiinflamatório do VCdt (s.c.) comparado a outras drogas antiinflamatórias, dexametasona (Dx) e Indometacina (Ind). **Métodos:** O VCdt (1,5mg s.c.) (8,8 mg v.o.) ou salina (50mL) ou Dx (1mg/kg) ou Ind (4mg/kg) foram injetados em camundongos Swiss machos, antes e após a injeção i.p. de Cg (300mg) ou salina (200mL). A contagem total das células foi realizada em Câmara de Neubauer e a diferencial em esfregaços sanguíneos. **Resultados:** O VCdt (v.o.) induziu inibição da migração, 41% no pré-tratamento (1h) (trat. $0,60 \pm 0,06$; controle $1,09 \pm 0,06$) e 38% no pós-tratamento (1h) (trat. $0,65 \pm 0,05$; controle $1,05 \pm 0,06$). O tratamento com VCdt induziu maior inibição na migração celular (trat $0,95 \pm 0,11$; controle $1,47 \pm 0,10$) quando comparado a Dx (trat $1,22 \pm 0,10$; controle $1,47 \pm 0,10$) e Ind (trat $1,37 \pm 0,14$; controle $1,47 \pm 0,10$). **Conclusão:** Assim como pela via s.c., o VCdt v.o., inibe a migração celular induzida pela Cg. Comparado às drogas antiinflamatórias, dexametasona e indometacina, o VCdt (s.c.), mostrou-se mais eficiente em inibir os eventos celulares da inflamação, confirmando dessa forma a ação antiinflamatória deste veneno. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.094

THE FUNDAMENTAL ROLE OF THE MICROBIOTA IN DEFINING INFLAMMATORY HYPERNOCEPTION

Amaral, F. A.¹; Cunha, T. M.²; Guerrero, A. T. G.²; Nicoli, J. R.³; Vieria, L. Q.⁴; Cunha, F. de Q.⁵; Teixeira, M. M.¹; Souza, D. da G. de¹ - ¹UFMG - Bioquímica e Imunologia; ²FMRP - USP - Farmacologia; ³UFMG - Microbiologia; ⁴UFMG - Bioquímica e Imunologia; ⁵USP - FMRP

INTRODUCTION: Germ-free (GF) mice have a reduced inflammatory response to various stimuli. This condition is associated with a diminished production of mediators of the inflammatory process. The present study was designed to investigate the response of GF mice to mediators or reactions capable of inducing inflammatory hypernociception. **METHODS:** GF and conventional (CV) mice were used. To measure mechanical hypernociception induced by intraplantar injection of the stimuli, we used an electronic version of the von Frey filament test. ELISA and MPO assays were used for the analysis of cytokine production and neutrophil infiltration, respectively. **RESULTS:** GF mice showed a markedly decreased hypernociceptive response to the injection of carrageenan or TNF- α when compared to CV animals. The levels of pro-inflammatory cytokines and neutrophil infiltration were diminished in the paw of GF animals. In contrast, the intraplantar injection of the final mediators (PGE₂ and dopamine) induced a hypernociceptive response that was similar in both groups. **DISCUSSION:** GF mice have a reduced hypernociceptive response to inflammatory stimuli. This appears to be due to the diminished production of mediators of inflammation in these animals. Our data suggest that the microbiota primes an animal to respond to environmental stresses, including those which cause inflammation and pain. **Supported by:** FAPEMIG, CNPq

06.095

ESTUDO DO PERFIL ANTIINFLAMATÓRIO E ANALGÉSICO DO COMPOSTO LASSBio 930

Mendonça Tributino, J. L.¹; Duarte, C. M.²; Lacerda, D. I.¹; Fraga, C. A. M.³; Barreiro, E. J.³; Castro, N.⁴; Miranda, A. L. P.³ - ¹UFRJ - Farmacol. Basica e clínica/LASSBio; ²UFRJ - I.Q./LASSBio; ³UFRJ - LASSBio; ⁴UFRJ - Farmacol. Basica e Clínica

Introdução – Uma nova série de substâncias análogas do composto LASSBio 294 foi previamente sintetizada em nosso laboratório (Miranda et al. An. 6^{ème} Congr. Soc. Fran.Pharmacol. P296,2002). Após a triagem inicial, o composto LASSBio 930 foi selecionado para análise do perfil analgésico e antiinflamatório.**Métodos**- A atividade antiinflamatória foi avaliada no modelo de edema de pata de rato induzido por carragenina. A atividade analgésica foi avaliada no modelo de contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos. O perfil anti-hiperalgésico foi avaliado em ratos segundo Lavich et al. (Braz J Med Biol Res, 38:445, 2005). A inibição sobre COX-1 e COX-2 foi avaliada em sangue humano total segundo Patrignani et al. (J. Pharmacol. Exp. Ther. 271: 1705, 1994). A dose de triagem in vivo utilizada foi de 300 µmol/kg, v.o. (n=7-10; p<0.05) **Resultados**- O composto apresentou uma DE₅₀ de 99,1 µmol/kg (3-600 µmol/kg, n=5-8 p<0.05) no ensaio de edema de pata de rato. As contorções abdominais e a hiperalgisia térmica medida na quarta hora foram inibidas em 70,7% e 81,2%, respectivamente.O composto inibe a COX-1 com IC₅₀ de 2,9 µM e resultados preliminares demonstram um perfil inibitório mais seletivo para COX-2 em sangue humano total.**Conclusão**-O composto LASSBio 930 apresenta um importante perfil analgésico e antiinflamatório in vivo, caracterizando-o como um novo protótipo de fármaco antiinflamatório. **Apoio Financeiro:** FAPERJ, FUJB, PRONEX, CNPq

06.096

EVALUATION OF THE DEVELOPMENT OF DELAYED HYPERALGESIA BY CROTALPHINE, AN ANALGESIC OPIOID OBTAINED FROM *Crotalus durissus terrificus* SNAKE VENOM (CdtV)

Pereira, L. M.¹; Picolo, G.¹; Brigatte, P.¹; Cury, Y.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia

Introduction: Crotalphine (CRP), an analgesic peptide obtained from CdtV, induces potent and long-lasting antinociception mediated by κ and δ opioid receptors. A potential problem with opioid treatment is the paradoxical development of delayed hyperalgesia. The aim of the present study is to investigate the development of hyperalgesia after treatment with CRP. **Methods:** Pain threshold was assessed using the rat paw pressure test. CRP (p.o.) or morphine (MOR, s.c.) was administered in subanalgesic (CRP= 8 $\mu\text{g}/\text{kg}$; MOR= 1 μg) or analgesic (CRP=20 ng or 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$; MOR=1 or 5mg/kg p.o.) doses. Pain threshold was evaluated before and at different times after treatments. Naloxone (NAL, 1 mg/kg, s.c.) was used to evaluate the involvement of opioid receptors in both the analgesic and hyperalgesic effects. **Results:** Antinociception was observed 3 and 5 h after CRP (20 ng and 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) or 1 h after MOR administration. Hyperalgesia was detected 96-120 h after MOR (5 mg/kg) treatment. NAL, administered 45 min after MOR, blocked both the analgesic (1h) and hyperalgesic (120 h) effects. When administered 15 min before the 120 h pain threshold evaluation, NAL also blocked MOR-induced delayed hyperalgesia, suggesting the involvement of opioid receptors in this phenomenon. **Conclusions:** CRP, contrary to morphine, does not induce delayed hyperalgesia. These data suggest that CRP will become an important candidate for a new opioid drug that fits into the pharmacotherapy of pain. **Supported by:** CNPq, COINFAR Pesquisa e Desenvolvimento

06.097

PRIOR MUSTARD OIL TREATMENT HAS DISTINCT INFLUENCES ON THERMAL HYPERALGESIA, BUT NOT NOCICEPTION, TRIGGERED BY MUSTARD OIL OR CAPSAICIN IN RATS.

Ono, L. M.¹; Chichorro, J. G.¹; Rae, G. A.¹ - ¹UFSC - Farmacologia

Introduction: Mustard oil (MO, i.e. allyl isothiocyanate) selectively activates TRPA1 receptors, while capsaicin (CPS) activates TRPV1 receptors (Caterina et al., Nature, 389:816, 1997; Jordt et al., Nature, 127:260, 2004). TRPA1 and TRPV1 are co-expressed by a sub-population of small diameter C-fibers (Kobayashi et al., J Comp Neurol, 493:596, 2005). This study assesses the influence of MO pre-treatment on nociception and thermal hyperalgesia induced by capsaicin and MO. **Methods:** Male Wistar rats received 2 intraplantar injections, 24 h apart, into the same hindpaw. On day 1, they received vehicle, MO 1% or CPS 3 mg. On day 2, they received vehicle, MO at 0.5 or 1%, or CPS 3 mg and were observed for nociception (paw flinches/elevation time in first 30 min) or thermal hyperalgesia (Hargreaves, up to 180 min). **Results:** Vehicle-pretreated rats displayed thermal hyperalgesia lasting 30 and 120 min after CPS and MO 0.5% on day 2, respectively. In comparison, rats pretreated with MO 1% on day 1 showed reduced hyperalgesia following MO 0.5% on day 2, but hyperalgesia to CPS was extended up to 90 min. Conversely, pretreatment with MO 1% on day 1 markedly potentiated nociception triggered by CPS or MO 0.5% on day 2. **Discussion:** Thus, prior injection of MO 1% exerts opposing influences on thermal hyperalgesia induced by CPS and MO, but overt nociception caused by both algogens are similarly potentiated. The mechanisms underlying these discrepant effects of MO treatment on sensory processes remain to be disclosed. **Supported by:** CNPq, FAPESC, PRONEX.

06.098

PAPEL DA GALECTINA-1 NA RESPOSTA FEBRIL INDUZIDA POR LPS EM RATOS.

Yamashiro, L. H.¹; Callejon, D.²; Dias-Baruffi, M.²; Souza, G. E. P.³ - ¹FCFRP - USP - Físico-Química; ²FCFRP - USP - Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas; ³FCFRP - USP - Física e Química

Introdução: Galectina-1(Gal-1) pertence a uma família de proteínas que reconhecem β -galactosídeos e participam de vários processos biológicos. A Gal-1 apresenta efeitos pró e antiinflamatórios por mecanismos ainda não totalmente conhecidos. O objetivo desse estudo foi investigar o efeito da Gal-1 na resposta febril em ratos induzida pelo LPS.

Métodos: A temperatura corporal foi avaliada por teletermometria a cada 30 minutos por 6 horas após os estímulos. Ratos machos Wistar (180-200g) foram tratados i.p. com Gal-1 nativa (0,1 μ M; 1,0 μ M e 10,0 μ M). Além disso, a Gal-1 nativa (Gal-1 nat) (0,01 μ M) e a derivatizada com iodoacetamida (Gal-1 iodo) foram injetadas via i.c.v. 1 hora antes da injeção i.v. de LPS (5 μ g/kg).

Resultados: A Gal-1 i.p. (0,1 μ M; 1,0 μ M e 10,0 μ M) não modificou a temperatura basal dos animais em relação ao grupo controle tratado com PBS. Além disso, a Gal-1 nat e a Gal-1 iodo não alteraram a febre induzida pelo LPS (Gal-1/ salina: $0,2 \pm 0,07$; CSF/LPS: 1.6 ± 0.1 ; Gal-1 nat/LPS: 1.2 ± 0.2); (Gal-1/salina: $0,2 \pm 0,07$; CSF/LPS: 1.6 ± 0.1 ; Gal-1 iodo/LPS: 1.2 ± 0.2).

Conclusão: A Gal-1 per si não altera a temperatura basal dos animais nem modifica a resposta febril induzida pelo LPS em ratos.

06.099

MECANISMO ASSOCIADO AO BLOQUEIO DO ESPASMO TRAQUEAL ANAFILÁTICO INDUZIDO POR JM25-1, ANÁLOGO NÃO ANESTÉSICO DA LIDOCAÍNA

Santos, L. P. G.¹; Costa, J. C. S.²; Cordeiro, R. S. B.³; Silva, P. M. R. e³; Martins, M. A.³; Menezes, M.¹ -
¹Fundação Oswaldo Cruz - Fisiologia e Farmacodinâmica; ²FIOCRUZ - Far-Manguinhos; ³FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica

Background e objetivo: Há evidências de que a ação anestésica local da lidocaína esteja diretamente associada à irritação de vias aéreas observadas em indivíduos nebulizados com a mesma. O objetivo deste trabalho foi comparar a atividade antiespasmódica da lidocaína com a do análogo não-anestésico JM25-1, em traquéias de ratos Wistar. **Métodos:** Anéis de traquéia de ratos sensibilizados subcutaneamente com uma mistura de ovoalbumina (50 µg) e Al(OH)₃ (5 mg), 14 dias antes, foram mantidos sob tensão basal de 1 g imersos em solução de Krebs aerada e termostada (37°C). A estimulação anafilática (ovoalbumina, 100 µg/ml) aconteceu na presença ou ausência de tratamentos (lidocaína ou JM25-1), feitos por 10 min imediatamente antes da estimulação antigênica. Cumulativas de Ca⁺² (0,01 a 30 mM) em tecidos despolarizados por KCl (100 mM) foram também submetidas aos tratamentos com lidocaína e JM25-1. **Resultados:** Ambos os tratamentos foram incapazes de modificar o tônus basal, mas bloquearam de maneira concentração-dependente o espasmo traqueal anafilático, sendo que JM25-1 mostrou-se claramente mais potente. A resposta ao Ca⁺² em condições de despolarização por alta concentração de potássio foi também inibida tanto por lidocaína quanto por JM25-1, mas novamente o análogo mostrou-se nitidamente mais potente. **Conclusões:** A atividade antiespasmódica da lidocaína parece prescindir da sua capacidade anestésica local. O bloqueio da entrada e/ou ação intracelular de Ca⁺² parece ter papel crucial no efeito antiespasmódico das substâncias testadas. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPERJ e PDTIS.

06.100

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO TOPIRAMATO EM MODELOS DE DOR AGUDA E NEUROPATIA DIABÉTICA.

Lopes, S. L.¹; Silva, L. L.²; Lucio Neto, M. P.²; Silva, S. P.²; Almeida, F. R. C.²; Souza, F. C. F. de¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFPI - NPPM

Introdução: A necessidade de novos analgésicos se dá pela complexidade do fenômeno doloroso e pelas reações adversas das drogas existentes. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antinociceptivo do topiramato (anticonvulsivante) em modelos de dor aguda e na dor neuropática. **Métodos:** A nocicepção foi avaliada em camundongos Swiss machos (25-35 g; n=8-12) 1 h após a administração de topiramato (T20, T40 e T80mg/Kg p.o.) ou veículo (C), através da medida do tempo que o animal lambia a pata após receber formalina (2%, 20µL, i.pl./fases A:0-10 e B:20-40 min) e capsaicina (2µg, 20µL, i.pl./5 min). Outro grupo de animais (n=8-10) foi submetido a uma placa aquecida a 62°C antes e 30, 60, 90 e 120min após o tratamento com T20, T40 e T80. Na avaliação do efeito de T40 e T80 na dor neuropática, induziu-se o diabetes com estreptozotocina (40mg/kg i.v.) em ratos Wistar machos (200-250g; n=5-6), e após 1 mês o limiar de resposta tátil foi avaliado com filamentos de von Frey (0,07-2g). **Resultados:** No teste da formalina houve redução da fase B (C=43,43±4,93; T20=18,90±2,82***, T40=18,90±4,21***, T80=23,90±5,69***), enquanto que apenas T80 mostrou efeito na fase A (C=30,29±4,02; 9,27±3,28***). Na placa quente T80 demonstrou atividade aos 90 (C=7,01±1,13; 16,80±2,44**) e 120min (C=6,01±1,20; 19,05±2,65**)(**p<0,01;***p<0,001). Não se verificou efeito significativo de T no teste da capsaicina nem na neuropatia diabética. **Discussão:** O topiramato apresenta efeito antinociceptivo frente a diferentes estímulos de dor aguda, mas não na dor neuropática diabética. **Apoio Financeiro:** UFPI, UFC.

06.101

AVALIAÇÃO ANTINOCICEPTIVA DE EXTRATOS DAS FOLHAS DA *Orbygnia speciosa*

Pinheiro, M. M. G.¹; Fernandes, P. D.¹; Menezes, F. S.¹ - ¹UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica

INTRODUÇÃO: *Orbygnia speciosa*, conhecida como babaçu, é uma palmeira brasileira de grande valor etnofarmacológico e econômico. Neste trabalho, os extratos das folhas de *O. speciosa* foram avaliadas quanto as suas ações antinociceptivas. **MÉTODOS:** Os extratos etanólico (E), hexânico (H), diclorometano (D) e acetato de etila (AE) das folhas de *O. speciosa* foram administrados por via oral nas doses entre 10 – 100 mg/kg em camundongos Swiss 44, machos, com peso de 20-25 g. Foram usados os testes de contorções abdominais induzidas por ácido acético, retirada de cauda e placa quente. **RESULTADOS:** No teste de contorção abdominal, com os extratos D e AE na dose de 10 mg/Kg os animais apresentaram os menores números de contorções ($51,5 \pm 6,9$ no grupo controle vs $16,5 \pm 4,1$ e $13 \pm 4,0$, respectivamente). No teste de retirada de cauda, com os extratos E e D na dose de 10 mg/Kg, os animais apresentaram maior tempo de latência 120 minutos após administração ($3,54 \pm 1,27$ s e $2,70 \pm 0,57$ s, $p < 0,05$, respectivamente) em relação ao veículo ($2,29 \pm 0,45$ s). No teste de placa quente, com o extrato D na dose de 100 mg/Kg os animais apresentaram maior tempo de latência 60 e 150 minutos após administração ($29,16 \pm 9,23$ s e $27,41 \pm 8,19$ s, $p < 0,05$, respectivamente) comparado ao veículo ($21,01 \pm 3,13$ s / $21,50 \pm 2,65$ s). **DISCUSSÃO:** Os extratos diclorometano das folhas de *O. speciosa* apresentam atividade antinociceptiva central e periférica e o extrato acetato de etila apresenta atividade antinociceptiva periférica. Nenhum apoio das agências de fomento.

06.102

AVALIAÇÃO ANTINOCICEPTIVA DE EXTRATOS DE FOLHAS DE *Couroupita guianensis*

Pinheiro, M. M. G.¹; Marinho, B. G.¹; Fernandes, S. B. O.¹; Menezes, F. S.¹; Fernandes, P. D.¹ - ¹UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica

INTRODUÇÃO: *Couroupita guianensis*, conhecida popularmente como castanha-de-macaco, possuem algumas indicações etnofarmacológicas como antiinflamatória, analgésica e anti-tumoral. **MÉTODOS:** Os extratos etanólico (E), hexânico (H), diclorometano (D), acetato de etila (AE) e butanólico (B) foram administrados por via oral em camundongos Swiss 44, machos, com peso de 20-25 g nas doses entre 100 e 10 mg/Kg e avaliados quanto a atividade antinociceptiva utilizando os testes de contorções abdominais induzidas por ácido acético, retirada de cauda e placa quente. **RESULTADOS:** No teste de contorções abdominais, com os extratos H e AE na dose de 10 mg/Kg os animais apresentaram menor número de contorções (grupo controle $51,5 \pm 6,9$ vs $27,2 \pm 3,2$ e $28 \pm 3,5$, respectivamente). No teste de retirada de cauda, os animais tratados com extrato B na dose de 100 mg/kg apresentaram maior tempo de latência 120 minutos após administração ($5,59 \pm 0,9$ s, $p < 0,001$) comparado ao veículo ($2,29 \pm 0,45$ s), enquanto que com o extrato AE na dose de 10 mg/kg ($3,65 \pm 1,23$ s, $p < 0,05$) os animais apresentaram melhor resultado no tempo de 40 minutos em relação ao veículo ($1,94 \pm 0,53$ s). No teste de placa quente, o extrato AE 100 mg/kg e B 10 mg/kg apresentaram melhores resultados, sendo que em ambos os animais tiveram o maior tempo de latência 150 min após a administração ($31,92 \pm 3,53$ s e $50,23 \pm 7,24$ s, respectivamente, $p < 0,001$) comparado ao veículo ($21,50 \pm 2,65$ / $21,12 \pm 3,52$ s). **DISCUSSÃO:** Os extratos B e AE apresentam atividade antinociceptiva central e os extratos H e AE antinociceptiva periférica. **Apoio Financeiro:** CAPES (para Fernandes, S.B.O.) CNPq (para Menezes, F.S.)

06.103

EFFECT OF CROTOXIN (CTX) ON CIRCULATING LYMPHOCYTES AND LYMPHOID ORGANS

Zambelli, V. O.¹; Sampaio, S. C.¹; Britto, L. R. G.²; Cury, Y.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia; ²ICB - USP - Fisiologia e Biofísica

Introduction: Data have shown the CTX, the main neurotoxin of *Crotalus durissus terrificus* venom and its subunit phospholipase A₂ (PLA₂) inhibit macrophage activity and that LO-derived lipid mediators mediate this effect. Our previous work showed that the toxins mobilize leukocytes to extravascular tissue and reduce the number of lymphocytes in blood and lymph, but the mechanisms involved in these effects were not known. This study aimed to investigate the effect of CTX and PLA₂ on lymphoid tissue (mesenteric lymph nodes and spleens) as well as to investigate the involvement of LO-derived lipid mediators on the effect of CTX or PLA₂ on circulating lymphocytes. **Methods:** The lymphoid organs of Wistar rats were removed 2h after s.c. injection of CTX (18µg/rat), PLA₂ (10.4µg/rat). Paraffin-embedded tissue sections were stained with HE for histopathological analysis. The expression of T and B lymphocyte was determined by immunohistochemistry. **Results:** CTX or PLA₂ reduced (42% and 51%, respectively) the number of circulating lymphocytes of Wistar rats, 2h after the treatments. Zileuton (100mg/Kg, p.o) blocked this inhibitory effect. CTX and PLA₂ promoted, in mesenteric lymph nodes, follicular hyperplasia with increase of germinal center. Hyperplasia of spleen white pulp was also detected. Toxin treatments increases T and B lymphocyte immunostain. **Conclusion:** These data indicate that toxins promote morphological alterations and increase the number of lymphocytes in lymphatic tissue. LO-derived lipid mediators mediate the decrease in the number of circulating lymphocytes caused by the toxins. **Supported by:** CAPES, CNPq

06.104

METABOLIC PROGRAMMING INDUCED BY PROTEIN DEFICIENCY DURING EARLY LACTATION AFFECT THE INNATE IMMUNITY IN ADULTS OFFSPRING

Baeta Rodrigues, D. S.¹; Vargas da Silva, S.²; Garcia de Souza, E. P.³; Moura, A. S.³; Barja Fidalgo, T. C.² - ¹UERJ - Farmacologia e Biologia Celular; ²UERJ - Farmacologia; ³UERJ - Ciências Fisiológicas

Objectives: We have demonstrated that adult rats offspring of dams submitted to protein restriction during early lactation, presented impaired acute immune responses probably related to an imbalance in glucocorticoids and insulin secretion (Barja-Fidalgo; *Inflamm Res* 52 (11): 470-6, 2003). Here, we evaluated the innate immunity mediated by PMN and host defense against infection in adult rats offspring of dams fed with either a protein free diet (UN-Group) or 22% protein diet (C-Group) during the first 10 days of lactation.

Methods and Results: UN rats showed lower number of blood PMN, though no difference in bone-marrow PMN number was observed. Blood PMN from UN-group presented a significantly reduced phagocytic activity against opsonized zymosan, constitutively expressed iNOS and spontaneously produced O₂⁻ and NO. UN rats presented a constitutive secretion of TNF- α , secreted significantly more TNF- α and showed enhanced O₂⁻ production by PMN than C rats in response to LPS treatment *in vivo*. LPS increased NO production by PMN from both groups, inducing iNOS expression in control cells, but no further increase in iNOS expression in UN rats. We also observed that UN animals presented a higher survival rate in a model of CLP-induced severe sepsis. **Conclusion:** These results indicate that metabolic programming induced during early lactation affects the innate immune responses in adult rats, which are unable to properly mount an inflammatory response, could predispose to chronic diseases in adult life. **Supported by:** SR-2-UERJ; CNPq; CAPES-PROCAD; IFS

06.105

FEVER AND SURVIVAL AFTER I.P. INJECTION OF E. coli IN RATS. EFFECT OF ANTIPYRETICS

Soares, D. de M.¹; Longhi, D. T.²; Souza, G. E. P.³ - ¹USP - Farmacologia; ²FMRP - USP - Farmacologia; ³FCFRP - USP - Física e Química

Introduction: LPS injected in bolus seems not reproduce all defense mechanism as does an infectious focus. This study investigated in rats if i.p. injection of replicating E. coli causes fever and death and the effects of antipyretics on these events. **Methods:** Different doses of Escherichia coli ATCC 10538, was injected in male Wistar rats (200 b.w.) Diclofenac (DICLO) or dipyron (DIP) were given i.p. (0.5 ml), 30 min before stimulus. Body temperature (bT) was measured every 30 min, throughout 48h, and the survival of animals monitored during 7 days.

Results: I.p. injection of E. coli induced a dose-dependent increase of bT in rats. Saline (SAL) or 10^3 CFU of E. coli did not alter bT of the animals ($36,94 \pm 0,1$; $36,9 \pm 0,1$; in °C, 4th h, respectively). At highest doses (CFU) of E. Coli increased bT peaking at 4th h: $10^6=37,9 \pm 0,2$; $10^8=38,2 \pm 0,2$; $2,5 \times 10^8=38 \pm 0,2$; $5 \times 10^8=38 \pm 0,4$; $10^9=38,6 \pm 0,3$ °C. The doses of 10^3 ; 10^6 ; 10^8 ; $2,5 \times 10^8$ CFU or SAL did not alter the survival. On the other hand, both 5×10^8 and 10^9 CFU were lethal 12 h after injection. DICLO (2 mg/kg) or DIP (60 mg/kg) did not alter (4th h, $37,95 \pm 0,2$; $37,8 \pm 0,23$ °C) while at doses of 10 mg/kg and 120 mg/kg, respectively, abolished fever to E. Coli 10^8 UFC (4th h, $37,4 \pm 0,07$; $37,4 \pm 0,17$) without alter the surviving of rats. **Conclusion:** Peritoneal infection induced by E. coli promotes a dose-dependent fever and constitutes a suitable model to study fever. DICLO and DIP at doses that abolished the fever did not alter the survival of rats suggesting that in this model fever is not essential for host defense.

Supported by: Capes, CNPq

06.106

PERFIL FARMACOLÓGICO DE NOVOS DERIVADOS *N*-ACILIDRAZÔNICOS QUINOXALÍNICOS.

Mazzeu, E. F.³; Fumian, M. M.³; Louback, L. S.³; Lima, L. M.²; Monge, A.³; Barreiro, E. J.¹; Miranda, A. L. P.¹ - ¹UFRJ - Faculdade de Farmácia - FÁRMACOS - LASSBio; ²UFRJ - Faculdade de Farmácia - LASSBio; ³Universidad de Navarra - Centro de Investigación en Farmacobiología Aplicada

Introdução: Os sistemas de anéis 1,4-dióxido-quinoxalínico e quinoxalina estão presentes na estrutura de diversos protótipos com atividades antineoplásica, antimicrobiana e antiinflamatória. Singh et al (Bioorg. Med. Chem. 12, 1881, 2004) descrevem a obtenção de derivados quinoxalínicos como inibidores seletivos de COX-2. Na busca por novos protótipos de fármacos antiinflamatórios, uma série de derivados *N*-acilidrazônicos (NAH) do núcleo quinoxalínico, desenhados a partir de troca bioisotérica clássica entre os anéis imidazolo-piridina (Ribeiro et al, 1998) e quinoxalina foi sintetizada. Este trabalho teve como objetivo a avaliação das propriedades antiinflamatória, analgésica e anti-agregante plaquetária desta nova série de derivados. **Métodos:** As atividades antiinflamatória, analgésica e anti-agregante plaquetária foram avaliadas nos modelos de edema de pata de rato induzido por carragenina, contorções abdominais induzidas por ácido acético em camundongos e agregação plaquetária de PRP citratado de coelho induzida por AA (200 µM), Colágeno (5 µg/ml), ADP (5 µM), respectivamente. A dose de “screening” utilizada in vivo foi de 100 µmol/kg (v.o.) e 100 µM in vitro. **Resultados:** Foram avaliados 18 compostos. A série não apresentou atividade anti-agregante plaquetária significativa. Por outro lado observou-se significativa inibição das contorções, em torno de 40% para os compostos mais ativos. Alguns destes compostos apresentaram um importante perfil antiinflamatório, sendo capazes de inibir significativamente o edema de 60% a 40% (n = 8-10; *p<0,05). **Conclusões:** Estes resultados demonstram que as modificações estruturais realizadas levaram a obtenção de uma nova série de compostos com propriedades antiinflamatória e analgésica relevantes. Podemos concluir, ainda que de forma preliminar, que a ausência de efeito na agregação plaquetária nos remete para um possível perfil de seletividade sobre a COX-2 desta nova série de NAH quinoxalínicas. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX, FAPERJ E CAPES

06.107

CROTOXIN INHIBITS NEUROPATHIC PAIN AND THE DEVELOPMENT OF NEUROMAS

Nogueira Neto, F. S.¹; Amorim, R.²; Brigatte, P.¹; Picolo, G.¹; Conceição, I. M.³; Ferreira Jr., W.¹; Nicoletti, J.⁴; Cury, Y.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia; ²UNESP - Clínica Veterinária; ³Instituto Butantan - Farmacologia; ⁴UNESP - Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

Introduction: *Crotalus durissus terrificus* venom (CdtV) induces analgesia mediated by opioid receptors. The factor responsible for this effect, named crotalphine, was recently isolated from crude venom. In addition to this factor, data have indicated that crotoxin (CTX), the main neurotoxic component of CdtV, exerts antinociception in an experimental model of cancer pain. This study evaluates the effect of CTX on neuropathic pain and analyses the mechanisms involved in this effect. **Methods:** Neuropathic pain was induced by neurectomy of sciatic nerve of male Wistar rats. Hyperalgesia and neuromas development were evaluated over a 64-day period after surgery. Hyperalgesia was assessed using the rat paw pressure test. Presence of neuromas was determined by histological analysis. **Results:** Hyperalgesia was detected 2h after surgery and persisted for 64 days. Neuromas were fully developed on day 64. CTX (0.01mM) applied to the proximal and distal nerve stumps, immediately after nerve transection, blocked hyperalgesia. Analgesic effect was observed 2h after CTX treatment and persisted for 64 days. CTX-induced analgesia was blocked by atropine and yohimbine. Methylatropine, methysergide, atenolol and naloxone did not alter this effect. Histological analysis showed that CTX delays the development of neuromas. **Conclusions:** CTX inhibits the development of neuropathy and induces a long-lasting analgesic effect on neuropathic pain mediated by central muscarinic receptors and α -adrenoreceptors.

06.108

AVALIAÇÃO PRELIMINAR DO EFEITO ANTINOCICEPTIVO DE SUBSTÂNCIAS ISOLADAS DAS FOLHAS E CASCAS DE *Cenostigma macrophyllum* TUL. VAR. *acuminata* TELES FREIRE.

Silva, L. L.¹; Araujo, P. B. M.²; Silva, R. H.²; Lopes, S. L.³; Silva, S. P.¹; Lucio Neto, M. P.¹; Almeida, F. R. C.¹; Chaves, M. H.² - ¹UFPI - NPPM; ²UFPI - Química; ³UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: *C. macrophyllum* Tul. var. *acuminata* (Caesalpiniaceae), conhecida como “caneleiro”, é utilizada como espasmolítica. Em estudos anteriores apresentou baixa toxicidade oral e ações anti-edematogênica, anti-ulcerogênica e antinociceptiva, sugerindo-se o envolvimento de princípios como os triterpenos, já detectados na espécie. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo preliminar do efeito antinociceptivo de um novo triterpeno (TP-I) isolado das folhas, em comparação com o lupeol (L) e estigmasterol/sitosterol (E/S) isolados das cascas desta espécie. **Métodos:** Camundongos Swiss machos (25-35g; n=7-12), foram utilizados no teste da formalina (2%; 20 μ L/i.pl.), onde foi quantificado o tempo que o animal lambia a pata que recebeu o estímulo durante 0-10 (A) e 20-40min (B), sendo este comparado entre os grupos. O TP-I (25 e 50mg/kg ip), E/S e L (25mg/kg ip), morfina-M (5mg/kg ip) e veículo-C (salina) foram administrados 30 min antes da formalina. **Resultados:** O TP-I apresentou efeito antinociceptivo significativo nas fases A (C=37,49 \pm 3,89; TP-I50=18,58 \pm 3,42***) e B (C=79,44 \pm 10,38; TP-I50=23,03 \pm 11,16*) somente na maior dose empregada. O L25 demonstrou efeito significativo em ambas as fases de resposta (A=18,46 \pm 2,97**) e (B=24,64 \pm 4,58*), assim como a M (A=8,55 \pm 3,08*** e B=13,23 \pm 4,05**) (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001) enquanto que E/S não apresentou efeito em nenhuma fase de resposta. **Discussão:** Os resultados preliminares sugerem que o TP-I e L podem ser substâncias envolvidas no efeito antinociceptivo observado com preparações brutas das folhas e cascas de *C. macrophyllum*. **Apoio Financeiro:** CNPq/UFPI/FINEP.

06.109

RECEPTORES DOPAMINÉRGICOS ENVOLVIDOS NA HIPERNOCICEPÇÃO INFLAMATÓRIA PERIFÉRICA EM CAMUNDONGOS

Funez, M. I.¹; Villarreal, C. F.²; Rosa, S. R.¹; Schivo, I. R. S.¹; Parada, C. A.¹; Ferreira, S. H.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²UFBA - Medicamentos

Introdução: A contribuição dos subtipos de receptores dopaminérgicos para a hipernocicepção inflamatória em camundongos foi avaliada. **Métodos:** O limiar nociceptivo de camundongos Swiss machos (30g) foi avaliado no modelo de pressão crescente na pata. Os valores, representados como delta (d), correspondem as diferenças entre o limiar basal e as leituras após o estímulo nociceptivo, sendo n=5 e p<0,05. O efeito do pré-tratamento com diferentes doses de antagonistas de receptores dopaminérgicos D1 (SCH23390, 9-250 ng), D2 (L741626, 11-100 µg) ou D4 (RBI257, 11-100 µg) sobre a hipernocicepção inflamatória induzida por dopamina (DA; 30 mg) foi avaliado. **Resultados:** A administração intraplantar de DA (3,3-30 mg) produziu resposta hipernociceptiva aguda e dependente da dose (d=7,0±0,9g). A pré-administração intraplantar do antagonista de receptores D1 (d=0±1g), mas não D2 (d=7,1±0,4g) ou D4 (d=6,5±0,7g), preveniu completamente, e de modo dose dependente, essa hipernocicepção. Nas doses utilizadas os antagonistas não alteraram *per se* o limiar nociceptivo. **Discussão:** O antagonista de receptores dopaminérgicos D1 preveniu o efeito hipernociceptivo da dopamina. A especificidade desse efeito foi reforçada pelo fato dos antagonistas de D2 e D4 não produzirem efeito em doses maiores que a dose efetiva do antagonista D1. Sugerimos que a hipernocicepção inflamatória periférica induzida por dopamina em camundongos é mediada por receptores dopaminérgicos D1. **Apoio Financeiro:** FAPESP e CNPq

06.110

VIAS DE SINALIZAÇÃO INTRACELULARES ENVOLVIDAS NA HIPERNOCICEPÇÃO INFLAMATÓRIA MECÂNICA EM CAMUNDONGOS

Villarreal, C. F.¹; Funez, M. I.²; Rosa, S. R.²; Schivo, I. R. S.²; Parada, C. A.²; Ferreira, S. H.² - ¹UFBA - Medicamentos; ²FMRP - USP - Farmacologia

Introdução: Avaliamos a contribuição dos sinalizadores intracelulares AMPc, PKA e PKC, para a hipernocicepção inflamatória aguda e persistente. **Métodos:** Camundongos Swiss machos (30g) receberam uma única injeção intraplantar (ipl) de PGE₂ (10-270ng) ou dopamina (DA; 3,3-30mg) ou 14 injeções ipl diárias de PGE₂ (90ng) ou DA (30mg). Os valores representam delta (d) da força em gramas, sendo n=5 e p<0,05. Para investigar vias de sinalização da hipernocicepção inflamatória utilizamos inibidores de adenilato ciclase (SQ 22536, ACi, 3-27µg), PKA (AKAP, PKAi, 0.3-3µg) ou PKCε (PKCεi, 1-9µg). **Resultados:** PGE₂ ou DA produziram hipernocicepção aguda e dependente da dose (d=6,0±0,7g; 6,0±0,8g). Em animais tratados diariamente a hipernocicepção persistiu até 30 dias (d=6,0±0,5g; 6,0±0,8g). A pré-administração de ACi, PKAi ou PKCεi preveniu a hipernocicepção aguda da PGE₂ (d=0±1g; 0±0,6g; 0±0,7g) e DA (d=2,1±0,6g; 2,3±0,8; 0±0,5g), enquanto a pós-administração de PKAi (d=0,5±1g; 2,0±1,4g) ou PKCεi (d=0±0,9g; 0±0,8g), mas não de ACi (d=5,9±1,3g; 5,6±0,8g), inibiu a hipernocicepção persistente. A hipernocicepção persistente induzida por PGE₂ foi definitivamente bloqueada por PKAi e PKCεi, enquanto a induzida por DA foi apenas temporariamente reduzida por esses inibidores. **Discussão:** Vias de sinalização intracelulares envolvidas na hipernocicepção inflamatória persistente e aguda provavelmente diferem sofrendo influência do mediador inflamatório. **Apoio Financeiro:** FAPESP e CNPq

06.111

ESTUDO SOBRE METEMOGLOBINEMIA E DEFICIÊNCIA DE G – 6 – PD EM PACIENTES COM MALÁRIA VIVAX

Rocha, M. A. F.¹ - ¹Fundação de Medicina Tropical do Amazonas - Malaria

Rocha, MAF¹; Sardinha, JFJ²; Arcanjo, ARL²; Silva, JT² Maciel, MSS¹, Alecrim, WD²
¹Centro Universitário Nilton Lins (UNILTONLINS); ² Fundação de Medicina Tropical do Amazonas (FMTAM)

Introdução: O tratamento da malária vivax com primaquina visa alcançar cura parasitológica. Podendo ocorrer diversos efeitos e hemólise em indivíduos com deficiência da Glicose-6-Fosfato Desidrogenase (G-6-PD). **Objetivo:** Verificar a ocorrência de metemoglobinemia e associar com a deficiência da G-6-PD, em pacientes com malária vivax, diagnosticados na FMTAM, para contribuir com a redução dos efeitos adversos da primaquina, principalmente nos paciente que apresentarem deficiência da enzima G-6-PD, evitando complicações hemolíticas mais grave e óbitos . **Materiais e métodos:** Dosagem qualitativa de G-6-PD e dosagem quantitativa da metemoglobinemia dos pacientes, através de sangue e correlacionar os resultados obtidos com sexo, idade, parâmetros hematológicos e bioquímicos. **Resultados:** Foram incluídos 310 pacientes neste estudo, quanto a dosagem qualitativa da G-6-PD, prevaleceu a maioria dos pacientes do sexo masculino. Os efeitos adversos representados pela metemoglobinemia causada pela primaquina foram observados entre o primeiro a sexto dia de tratamento, foram também observadas diversas alterações nos exames laboratoriais: redução dos níveis de hemoglobina, hematócrito. Elevação dos níveis de reticulócitos e bilirrubina Indireta. Nas manifestações clínicas mais freqüentes estão a febre, cefaléia e o calafrio. **Conclusões:** De acordo com a análise dos resultados obtidos, os pacientes apresentaram efeitos adversos significativos, que correlacionados com os resultados clínicos e laboratoriais, são sugestivos de metemoglobinemia e hemólise em pacientes com deficiência de G-6-PD, quando tratados com primaquina. **Palavras – chave:** Malária vivax, metemoglobinemia, deficiência de G-6-PD. **Apoio Financeiro:** Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Amazonas -FAPEAM

06.112

A DOR INFLAMATÓRIA É MEDIADA POR RECEPTORES P2X3 E P2X7

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

Considerando que em situações de injúria tecidual o ATP é liberado para o meio extracelular e contribui com a hiperalgesia inflamatória, sobretudo, via receptores P2X3 e P2X7, o objetivo desse trabalho foi avaliar o mecanismo pelo qual o ATP endógeno participa da hiperalgesia mecânica induzida pela administração de carragenina na pata de ratos, e em que etapa da cascata inflamatória o ATP, via receptores P2X3 ou P2X7, estaria envolvido. A resposta hiperalgésica foi quantificada através do analgesímetro de pressão Randal Sellito. A hiperalgesia mecânica induzida pela carragenina (300µg) foi significativamente ($p < 0,05$) atenuada em 100% e 90% pela co-administração dos antagonistas seletivos de receptores P2X3 e P2X7, TNP-ATP (240µg, n=6) e oATP (6µg, n=6), respectivamente. A hiperalgesia induzida pela bradicinina (1,5pg, n=6) foi significativamente ($p < 0,05$) atenuada pelo TNP-ATP em 76%, e a induzida pelo CINC-1 (1,0pg, n=6), IL-6 (0,1ng, n=6) e dopamina (10µg, n=6) foi significativamente ($p < 0,05$) atenuada pelo oATP em 54%, 48% e 40%, respectivamente. Porém, a hiperalgesia induzida pelos outros componentes da cascata inflamatória, tais como: TNF α (0,8pg, n=6), IL-1 β (1,5pg, n=6) e PGE₂ (0,1µg, n=6), não foram significativamente ($p > 0,05$) alterados pelo TNP-ATP ou oATP. Os resultados sugerem que a hiperalgesia induzida pela carragenina é mediada pelos receptores P2X3 e P2X7 e que o ATP endógeno participa da hiperalgesia induzida pela bradicinina através dos receptores P2X3, e da hiperalgesia induzida pela IL-6, CINC-1 e dopamina através de receptores P2X7. **Apoio Financeiro:** FAPESP

06.113

ATP INDUZ HIPERALGESIA MECÂNICA ATRAVÉS DE MECANISMOS INDIRETOS

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

Considerando que o agonista seletivo de receptor P2X_{1,3,2/3}, α,β -meATP, induz hiperalgesia mecânica na pata de ratos (Tsuda et.al., 2000), o objetivo deste trabalho foi avaliar o mecanismo pelo qual essa resposta hiperalgésica é desenvolvida. A resposta hiperalgésica induzida pelo α,β -meATP foi quantificada 30min., 1, 2 e 3h após sua administração através de um analgesímetro de pressão (Randal Sellito). Para avaliar se a hiperalgesia induzida pelo α,β -meATP é mediada pela bradicinina, e/ou pela liberação de prostaglandinas e/ou aminas simpatomiméticas, o antagonista de receptor B1 (DALBK), B2 (Bradyzide), o inibidor da síntese de COX-2 (indometacina) ou o antagonista não seletivo de adrenoceptor (propranolol) respectivamente, foi co-administrado com o α,β -meATP. O α,β -meATP (50 μ g) induziu hiperalgesia mecânica (Média \pm EPM: 24,44 \pm 3,01, n=6, p<0,05, teste Tukey) significativamente maior que o NaCl 0,9% (2,78 \pm 2,14, n=6) 1h após sua administração. A co-administração de DALBK (3,0 μ g, n=6) (-8,89 \pm 3,15), bradyzide (0,5 μ g, n=6) (26,67 \pm 3,15), indometacina (100 μ g, n=6) (-1,56 \pm 2,14) ou propranolol (2,25 μ g, n=6) (-1,11 \pm 2,57) bloqueou (p<0,05, teste Tukey) a hiperalgesia induzida pelo α,β -meATP, mas não afetou tal resposta quando injetado na pata contralateral (24,44 \pm 2,34; 35,00 \pm 3,49; 22,78 \pm 2,90; 30,00 \pm 2,36; respectivamente, n=6, p>0,05, teste T). Os resultados demonstram que a hiperalgesia mecânica induzida pelo α,β -meATP é mediada pela liberação de bradicinina, prostaglandinas e aminas simpatomiméticas. **Apoio Financeiro:** FAPESP

06.114

LUMBAR SPINAL NERVE LIGATION CHANGES NOCIFENSIVE RESPONSIVENESS TO AND RECEPTOR EXPRESSION FOR ENDOTHELIN-1.

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

Introduction: Endothelin-1 (ET-1) causes pain, hyperalgesia and allodynia in experimental animals. We have now investigated the effect of endothelin ET_A and ET_B receptor antagonists in the overt nociception induced by ET-1 and the expression of these receptors after spinal nerve ligation (SNL) in rats. **Methods and Results:** Tight 6-0 silk thread sutures placed unilaterally around L5 and L6 spinal nerves (Kim & Chung. Pain, 50: 355, 1992) of male Wistar rats (200 g, n=5-7). At 12 days after surgery, ET-1 (10 pmol/50 µl) injected into the hindpaw ipsilateral to nerve injury induced overt nociception over the first 5 min which was significantly increased in SNL rats (PBS: Sham: 3.4 ± 0.7 s, SNL: 1.9 ± 0.9 s; ET-1: Sham: 48 ± 8 s, SNL: 161 ± 6 s). Prior i.pl. injection of the selective ET_A receptor antagonist BQ-123 (10 nmol, 30 min beforehand) reduced ET-1-induced pain-like behaviour in SNL rats to 81 ± 14.3 s, whereas BQ-788 did not modify this response (123 ± 17 s). In another group of rats, the hindpaw tissue was removed to evaluate the ET receptor expression by Western blot analysis. We detected that the levels of ET_A and ET_B protein were significantly reduced in SNL rats when compared with Sham group. **Discussion:** Thus, potentiation of ET-1-induced overt nociception during SNL neuropathy in rats seems to involve enhancement of signalling mechanisms operated by ET_A receptors, as ET_A/ET_B receptor expression in the hindpaw tissues are diminished in response to nerve injury. **Supported by:** CNPq, CAPES, FAPESC and PRONEX.

06.115

ROLE OF ENDOTHELIN ET_A AND ET_B RECEPTOR ANTAGONISTS IN LUMBAR SPINAL NERVE LIGATION-INDUCED NEUROPATHY IN RATS.

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

Introduction: Spinal lumbar nerve ligation (SNL) induces persistent thermal and mechanical hypersensitivity of the ipsilateral hindpaw (Werner et al., XXXVI SBFTE; res. 06.029, 2004). As endothelin-1 (ET-1) has been implicated in mediation of neuropathic pain, we have assessed the acute effects of intraplantar administration of the selective ET_A (BQ-123) and ET_B (BQ-788) receptor antagonists on the sensory changes induced by SNL. **Methods and Results:** Male Wistar rats (200 g, n=3-7) submitted to SNL injury (method of to Kim & Chung. Pain 50; 355, 1992) developed long-lasting heat hyperalgesia as compared to the Sham-group (paw-withdrawal latency on day 12: 7.5 and 12.6 s, respectively; Hargreaves test). BQ-123 (10 nmol/paw) increased the PWL of the SNL group by 47% 30 min after injection, but BQ-788 caused no changes. SNL-injured rats also displayed cold hyperalgesia when compared to the sham-group (hindpaw flinching on day 20: 12.2 and 1.2 s, respectively; 100 µl acetone spray to plantar surface). BQ-123 and BQ-788 (3 and 10 nmol/paw) transiently reversed cold hyperalgesia 90 min after injection (37 and 53%; 29 and 42%, respectively). SNL-rats also displayed marked BQ-123-insensitive mechanical allodynia (to von Frey hairs, up-down method). **Conclusion:** Thus, SNL activates mechanisms operated by ET_A receptors to promote heat hyperalgesia and by both ET_A and ET_B receptors to induce the cold hyperalgesia. Endothelin receptor blockade might be useful to alleviate neuropathic symptoms in the clinic. **Supported by:** CNPq, CAPES, FAPESC and PRONEX.

06.116

EFFECT OF ANTIPYRETIC DRUGS ON FEVER/SURVIVAL INDUCED BY CECAL LIGATION AND PUNCTURE (CLP) IN RATS

Figueiredo, M. J.¹; Batista, B. L. P.²; Torres, D.¹; Cunha, F. de Q.¹; Souza, G. E. P.² - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²FCFRP - USP - Física e Química

Introduction: Sepsis is the systemic response to severe infection in which the fever is the most frequent manifestation. In this study we investigated the effect of antipyretic drugs in body temperature and survival after CLP-sepsis induction. **Methods:** Body temperature (bT) was measured by biotelemetry in male Wistar rats (200-250 g b.w.), every 30 min, during 48 h, after surgical procedure (sham or CLP). The survival was monitored by 7 days. **Results:** Rats received celecoxib (1; 2.5 and 5 mg/kg per os) or acetaminophen (75; 150 and 300 mg/kg per os) 1h after puncture of antimesenteric cecal surface (four punctures, 16-gauge needle). Celecoxib 5 mg/kg and acetaminophen 300 mg/kg did not alter bT of control animals. Celecoxib 1 mg/kg did not modify the fever induced by CLP; 2.5 and 5 mg/kg attenuated this response (6th h: from 38.6±0.23 to 37.7±0.07 °C and from 38.6±0.23 to 37.8±0.09, respectively; $p < 0.05$). In addition, celecoxib at doses of 2.5 and 5 mg/kg increased the survival of septic animals (from 37.5 to 62.5% and from 37.5 to 50% respectively). Acetaminophen 75 mg/kg did not alter the fever induced by CLP and the doses of 150 and 300 mg/kg reduced this response (6th h: from 38.7±0.20 to 38.0±0.11 °C and from 38.7±0.2 to 37.7±0.13 °C, respectively; $p < 0.01$). At doses of 150 and 300 mg/kg acetaminophen also increased the survival (from 50 to 80%). **Conclusion.** These results suggest that the fever induced by CLP and the survivals are sensible to post-treatment with celecoxib and acetaminophen. However, the mechanism by which celecoxib and acetaminophen increased survival needs to be investigated. **Supported by:** CAPES, CNPq

06.117

EFEITO DO ANTAGONISTA SELETIVO DOS RECEPTORES CXCR2, SB225002, EM DIFERENTES MODELOS DE NOCICEPÇÃO EM CAMUNDONGOS

Manjavachi, M. N.¹; Quintao, N. L. M.¹; Dechamps, I. K.¹; Leal, P. C.²; Campos, M. M.³; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - QMC/CFM; ³PUC - RS - Odontologia

Introdução: O SB225002 é um potente e seletivo inibidor não-peptídico do receptor CXCR2 para quimiocinas (Biochem. Pharmacol., 65: 814, 2003). Este trabalho avaliou os efeitos do SB225002 em diferentes modelos de nocicepção em camundongos. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados camundongos Suíços machos (N=4-6, 20-30 g), pré-tratados com SB225002 (0.1 – 3 mg/kg, i.p., 30 min) e avaliados em diversos modelos de nocicepção aguda ou crônica. O tratamento com o SB225002 (0.1-1 mg/kg) reduziu de forma dose-dependente, o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (94±3%). Da mesma forma, o SB225002 (1- 3 mg/kg) inibiu significativamente a nocicepção espontânea causada pela epinefrina na pata de camundongos (55±2%), a hipernocicepção mecânica induzida pela carragenina, pelo Adjuvante Completo de Freund (CFA) ou pela constrição parcial do nervo ciático (52±3%, 40±1% e 60±2%, respectivamente). Por outro lado, o tratamento com o SB225002 (1- 3 mg/kg) não foi capaz de alterar a nocicepção espontânea induzida pela injeção intraplantar de capsaicina, formalina, glutamato ou forbol,12-miristato,13-acetato (PMA). **Conclusão:** Os resultados sugerem que o receptor CXCR2 possui um papel importante na manutenção de processos nociceptivos, especialmente aqueles de caráter crônico, podendo representar um alvo terapêutico de interesse para o desenvolvimento de drogas analgésicas. Apoio Financeiro: CNPq, PRONEX, FAPESC e CAPES.

06.118

INHIBITION OF ALLERGIC PLEURAL EOSINOPHILIA BY NITRIC OXIDE RELEASING GLUCOCORTICOID NCX-1015.

Oliveira, M. dos S. S.¹; Barreto, E.²; Wallace, J. L.³; Zamuner, S.³; Martins, M. A.¹; Silva, P. M. R. e¹ -
¹FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica; ²UFAL - Genética e Biologia Molecular; ³University of Calgary - -

Introduction: 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 a steroid compound coupled with nitric oxide (NO)-releasing moiety on the allergic eosinophil recruitment in rats. **Methods:** Wistar rats were actively sensitized with aluminium hydroxyde and ovalbumin, followed by intrapleural challenge with antigen, 14 days later. **Results:** Local administration of prednisolone or NCX-1015 (0.8-8.0 µmol/kg) effectively inhibited late eosinophil influx. The doses required for NCX-1015 to produce maximal reduction were about one-third the dose of prednisolone. We also noted that NCX-1015 inhibited cysteinyl leukotriene (cys-LT) generation, at 12 and 24 h after antigen challenge, under conditions where prednisolone had no effect. This phenomenon directly correlated with reduced expression of 5-lipoxygenase, a key enzyme responsible for cys-LT synthesis. In addition, pre-treatment with the steroid receptor antagonist RU486 completely reversed the inhibitory effect of prednisolone, but only partially affected the one of NXC-1015. **Conclusion:** Since eosinophil infiltration is a critically feature in the context of allergic inflammation, our findings clearly suggest that strategies such as association of steroids with a NO releasing moiety may constitute a promising therapeutic approach for the treatment of allergic diseases. **Supported by:** CNPq/FIOCRUZ.

06.119

EXACERBATION OF PULMONARY ALLERGIC INFLAMMATION AFTER RAT AIRWAYS EXPOSITION TO STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXIN TYPE A (SEA)

Mariano, N. S.¹; Desouza, I.¹; Camargo, E.¹; Antunes, E.¹ - ¹UNICAMP - Farmacologia

Introduction: We have previously shown that rat airways exposition to SEA evoke a large influx of neutrophils in bronchoalveolar lavage fluid (BAL) by mechanisms involving over-expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant (CINC-2), iNOS and COX-2, as well as enhanced production of TNF- α and IL-6 (Desouza et al., Br. J. Pharmacol., 146, 781, 2005). Clinical evidences suggested a link between bacterial organisms and pathogenesis and/or exacerbation of human upper airway disease. Therefore, this study aimed to investigate the effects of sensitized rat pre-exposition with SEA on OVA-induced allergic pulmonary inflammation. **Methods and Results:** Male Wistar rats were sensitized by subcutaneous injection of OVA. Fourteen days later, sensitized rats were submitted to intranasal administration of SEA (3 ng) or sterile PBS buffer. OVA challenge was performed 4 h after the SEA (or PBS) intranasal administration and BAL was obtained at 24 after. The eosinophil counts on BAL from rat submitted to airways pre-exposition with SEA was significantly enhanced (358%) 24 h after OVA-challenge when compared with the group pre-exposed to PBS (PBS+OVA: 0.46 ± 0.12 eosinophils/ml $\times 10^6$; SEA+OVA: 2.11 ± 0.70 eosinophils/ml $\times 10^6$). No such potentiation was observed for neutrophils and mononuclear cells. **Conclusions:** The airways pre-exposition to SEA exacerbates the allergic pulmonary inflammation. The mechanisms involved in such exacerbation are under current investigation. **Supported by:** Fapesp

06.120

EFFECT OF ANTIPYRETICS DRUGS IN THE FEVER INDUCED BY RANTES

Machado, R. R.¹; Martins, J. M.²; Batista, B. L. P.¹; Soares, D. de M.²; Proudfoot, A. E. I.³; Souza, G. E. P.¹ - ¹FCFRP - USP - Física e Química ; ²FMRP - USP - Farmacologia; ³Serono Pharmaceutical Research Institute - Serono Pharmaceutical Research Institute

Introduction- RANTES (Regulated on activation, normal T cells expressed and secreted), a CC chemokine acts on CCR1, CCR3, and CCR5 receptors and promotes a febrile response sensitive to some steroidal and non steroidal antipyretic drugs. This study investigated the effects of acetaminophen (ACE), diclofenac sodium (DICLO), celecoxib (CELEC) on fever induced by RANTES. The ability of this chemokine to change prostaglandin (PGE₂) levels in the cerebrospinal fluid (CSF) was also evaluated. **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 vehicle only. Body temperature (bT, °C) was measured for up to 6 h by radio-telemetry system. ACE (150 mg/kg, p.o.), DICLO (2 mg/kg, i.p.) and CELEC (5 mg/kg, p.o.) were administered 30 min before RANTES. The CSF of the animals was collected 1, 2.5 and 5 h after injection of RANTES by puncture of *cisterna magna*. PGE₂ levels in CSF were measured by radioimmunoassay (RIA). **Results-** ACE reduced by 64% (from 1.33±0.14 to 0.48±0.13), DICLO by 51% (from 1.17±0.12 to 0.57±0.13), and CELEC by 96% (from 1.46±0.14 to 0.06±0.03) the RANTES-induced fever. Data represent bT values at 2.5h. RANTES increased CSF PGE₂ concentration when compared to control animals (from 30.46±9.47 pg/ml to 373.23±99.56 pg/ml; 2,5 h). **Discussion-** Fever induced by RANTES seems to depend on PGE₂, probably synthesised via COX-2. **Supported by:** FAPESP

06.121

IRAK-4 E MAPK JNK MEDEIAM A HIPERNOCICEPÇÃO MECÂNICA INDUZIDA PELA INTERLEUCINA-1Beta.

Braz, D.¹; Cunha, F. de Q.¹; Ferreira, S. H.² - ¹USP - FMRP; ²FMRP - USP - Farmacologia

Introdução: A interleucina-1beta (IL-1b) exerce suas ações biológicas pela ligação ao seu receptor do tipo I e a subsequente ativação de sinalizadores intracelulares, dentre eles a quinase associada ao receptor de IL-1 (IRAK) e as proteinoquinas ativadas por mitógenos (MAPKs). Destarte, o objetivo deste trabalho foi avaliar os mecanismos moleculares envolvidos na hipernocicepção mecânica aguda (HMA) induzida pela IL-1b.

Métodos: A HMA foi avaliada em ratos Wistar machos (180-200 g) pelo teste de pressão constante na pata de ratos. A análise da expressão de RNAm para IRAK-4 foi feita por PCR em Tempo Real. **Resultados:** A administração intratecal (it) de IL-1b (0.16pg) induziu HMA bilateralmente. A administração it de ODN antisense para IRAK-4 (20 ug/dia, 4 dias) inibiu em 71% a HMA induzida pela administração it de IL-1b. O tratamento com o ODN antisense reduziu em 20% a expressão de RNAm para IRAK-4. Animais controle receberam injeção it de ODN seqüência mismatch. O pré-tratamento it ou intraplantar (ipl) com SP600125 (inibidor seletivo de JNK - 135ug) inibiu em 94% e 74%, respectivamente, a HMA induzida pela administração it de IL-1b. A administração it ou ipl de SP600125 ou seu veículo (DMSO 2%) não alterou o limiar nociceptivo dos animais. **Discussão:** Estes dados sugerem que na HMA induzida pela IL-1beta há o envolvimento da IRAK-4 e JNK e acrescentam nossos resultados anteriores demonstrando a participação das MAPKs ERK 1/2 e p38, contribuindo para o esclarecimento dos eventos moleculares que ocorrem na dor inflamatória. **Apoio Financeiro:** FAPESP, FAEPA

06.122

THE ROLE OF LIX (LPS-INDUCED CXC CHEMOKINE) ON NEUTROPHIL RECRUITMENT IN A MODEL OF IMMUNE INFLAMMATION

Vieira, S. M.¹; Lemos, H. P.²; Grespan, R.²; Fernandes, K. S.²; Cunha, F. de Q.² - ¹INPA - FMRP-USP; ²FMRP - USP - Farmacologia

Introduction: The newly mice CXC chemokine induces potent chemotactic activity to neutrophil (NØ) both *in vivo* and *in vitro*. LIX share structural homology with the human chemokines ENA-78 and GCP-2. Thus, we investigate the mechanisms involved in the LIX-induced NØ migration to mice peritoneal cavities.

Methods & Results: We observed that the i.p. administration of methylated bovine serum albumin (mBSA) in immunized mice induces NØ migration is dependent on LIX production, as a increase of the concentration of this chemokine was determined by ELISA in the peritoneal exudates 2.0h after antigen-challenge when compared to control mice (5,796±0,889). Moreover, i.p. administration of LIX in naïve mice induces dose-dependent NØ migration to peritoneal cavities, which peaked in 30 ng/cavity at 4^o h (3,421±0,319). The pretreatment of the mice with thalidomide (TNFα synthesis inhibitor; sc; 50 mg/kg) inhibited LIX-induced NØ migration (0,268±0,061). The involvement of TNFα was confirmed by injection of LIX in p55^{-/-} deficient mice, where LIX induced weak NØ migration when compared to wild-type mice (1,016±0,391). **Discussion:** The results suggest that mBSA-induces NØ recruitment dependently of LIX and TNFα. Futurely, the knowing of mechanisms involved in the neutrophil activation and recruitment can be potential therapeutic interest to development of specific antagonists of chemokines to use in several diseases, where neutrophils have a key role, such as inflammatory bowel diseases and psoriasis. **Supported by:** FAPEAM, FAPESP, CNPq

06.123

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO CRAVO DA ÍNDIA

Sartoretto, S. M.¹; Daniel, A. N.¹; Schmidt, G.¹; Dantas, J. A.¹; Bersani-Amado, C. A.¹; Cuman, R. K. N.¹ -
¹UEM - Farmácia e Farmacologia

Introdução: O eugenol (O.E), óleo essencial extraído do cravo da Índia, tem sido utilizado na odontologia como analgésico e anti-séptico e está presente em diversas preparações para uso em dentística, endodontia e cirurgia periodontal. Neste trabalho, a atividade antiinflamatória foi avaliada através do teste da formação do edema de pata induzido pela carragenina. **Métodos:** Foram utilizados ratos machos da linhagem Wistar e submetidos a jejum de 18 horas. Os animais receberam por via oral (v.o.) **O.E** (100, 200 e 400mg/kg) 30 minutos antes da indução da inflamação. Como drogas de referência foram utilizadas Celecoxib (**Cel** 10mg/kg v.o.) e Indometacina (**I** 5mg/kg v.o.), e os animais controle (**C**) receberam água (v.o.). O volume da pata foi medido nos tempos 1, 2, 4 e 24 horas após a injeção intraplantar da carragenina. **Resultados:** Duas horas após a injeção do agente flogístico, houve uma redução significativa na formação do edema de pata nos grupos: **Cel** (34,5%) e **OE 400** (29,3%) quando comparados ao grupo controle. Esta redução também foi observada na quarta hora para os grupos: **I** (43,8%), **Cel** (43,8%) e **OE 400** (35,6%). C (n=9), Cel (n=10), I (n=9), O.E: 100mg/kg (n=8), 200mg/kg (n=8), 400mg/kg (n=9). **Discussão:** Os dados obtidos, indicam que o eugenol apresenta atividade antiedematogênica somente na dose de 400mg/Kg. **Apoio Financeiro:** CNPq/ UEM

06.124

PARTIAL PURIFICATION OF PREFORMED PYROGENIC FACTOR (PFPF) OBTAINED FROM LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) STIMULATED RAT MACROPHAGES

Yotsuyanagi, S. L.¹; Uyekita, P. S.²; Veiga-Souza, F. H.³; Souza, G. E. P.⁴; Laure, H. J.⁵; Greene, L. J.⁵ - ¹FCFRP - USP - Físico - Química; ²USP - Físico - Química; ³Universidade Estadual de Goiás - Farmacologia; ⁴FCFRP - USP - Física e Química; ⁵Centro de Química de Proteínas e Centro Regional de Hemoterapia - Biologia Celular, Molecular e Bioagentes Patogênicos

Aim: To increase the recuperation of products from the crude supernatant derived from LPS-stimulated rat peritoneal macrophages which contain PFPF. **Methods and Results:** The supernatant of LPS stimulated macrophage monolayers was submitted to Sephacryl 200 chromatography 16/60) eluted with PBS (phosphate buffered saline). Intracerebroventricular injection of 50 ng/rat of fraction 3 (MW » 60 kDa) showed pyrogenic activity (4.5 h: 0.7±0.10°C) which was not modified by indomethacin (2mg/kg) but was significantly reduced by BQ-123 (ET_A receptor antagonist; 4.0 h: vehicle: 0.9±0.1; BQ-123: 0.3±0.1°C) and BQ-788 (ET_B receptor antagonist; 4.0 h: vehicle: 0.9±0.1; BQ-123: 0.2±0.1°C) given i.c.v., 3pmol. Control animals that received saline plus artificial cerebrospinal fluid showed no change in the basal temperature. Fraction 3 submitted to polyacrylamide gel electrophoresis and stained with silver, presented two bands, one of them at the low dose of 2.5 ng/rat, i.c.v. promoted febrile response (4.5 h: 0.5±0.10°C). At the same dose the other band showed no pyrogenic activity. Blank polyacrylamide gel extraction does not alter basal temperature of rats. **Conclusions:** The pyrogenic activity of fraction 3 from PFPF does not depend on prostaglandins but on endothelins via ET_A and ET_B. Furthermore, the pyrogenic activity of this very potent fraction was present in only one band after polyacrylamide electrophoresis. **Supported by:** CNPq, FAPESP and FINEP.

06.125

INFLUENCE OF THE METHOD OF EXTRACTION ON THE NEUROGENIC ACTIVITY OF WASP (*Polistes lanio lanio*) VENOM

Yshii, L. M.¹; Hyslop, S.²; Brain, S.³; Tam, C.⁴; Ribela, M. T. C. P.⁵; Muscara, M. N.⁶; Costa, S. K. P.⁶ - ¹ICB - USP - Farmacologia; ²UNICAMP - Farmacologia; ³King's College London - Center for Cardiovascular Biology and Medicine; ⁴King's College London - Cardiovascular Division; ⁵IPEN - Biologia Molecular; ⁶USP - Farmacologia

Introduction: *Polistes lanio lanio* wasp venom (PLL_v) causes neurogenic oedema via a tachykinin NK₁ receptor-mediated mechanism in mouse dorsal skin (Yshii *et al.*, 2005, www.pa2online.org). However, in subsequent experiments using venom obtained by a different method, we observed that the oedema was not inhibited by NK₁ receptor antagonist. In the present work, we used normal (C57BL/6) as well as NK₁ and vanilloid (TRPV1) receptor knockout (KO) mice to compare the oedematogenic effects of venom prepared by these two methods. **Methods:** Venom (PLL_{v1}) was obtained as described by Yshii *et al.* (2005). Venom was also obtained by a new method in which the venom sacs were removed along with the sting and the sting then inserted into a small length of polyethylene cannula. The venom (PLL_{v2}) was expelled into the cannula by lightly compressing the venom sac and was immediately lyophilized or stored in liquid form at -20°C. Male and female normal or NK₁ and TRPV1 receptor KO mice (25-30 g) were anaesthetized with urethane. ¹²⁵I-Albumin was injected via a tail vein and the venom or vehicle was injected i.d. into the shaved dorsal skin. After 30 min, the mice were killed and the skin site was removed. Oedema formation was assessed by the extravascular accumulation of ¹²⁵I-albumin in the skin compared to plasma. The results were expressed as the mean ± SEM and were compared by ANOVA and Bonferroni's modified *t*-test. **Results:** As previously observed with PLL_{v1}, PLL_{v2} (0.3 – 10 mg/site) caused potent, dose-dependent oedema in mouse dorsal skin. However, in contrast to PLL_{v1}, this oedema was not affected by co-injection of the tachykinin NK₁ receptor antagonist SR140333 (1 nmol/site), but was markedly reduced by the histamine H₁ receptor antagonist, pyrilamine (0.8 µg/site). In addition, the PLL_{v2}-induced oedema in normal mice was similar to that in NK₁ and TRPV1 KO mice. **Discussion:** PLL_{v2} caused oedema equipotent to that of PLL_{v1}. However, the venom obtained by this new method of extraction was devoid of the neurogenic component seen in PLL_{v1}. This finding suggests that the previous method resulted in contamination of the venom by tachykinin-like components from glandular tissue. We conclude that in mouse dorsal skin pure PLL_{v2} causes inflammation via non-neurogenic mechanisms. **Acknowledgments:** M.A.A.G. Barreto provided technical help. **Supported by:** CAPES, CNPq, FAPESP (Brazil) and BHF (U.K.).

06.126

LASSBIO 965 PREVENTS AIRWAY EOSINOPHILIA AND HYPERREACTIVITY IN A MURINE MODEL OF ALLERGIC INFLAMMATION

Cardozo, S. V. S.¹; Alves, F. M. S.¹; Menezes, M.¹; Serra, M. F.¹; Pires, A. L. de A.¹; Silva, P. M. R. e¹; Lima, L. M.²; Barreiro, E. J.²; Martins, M. A.¹ - ¹FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica; ²UFRJ - Faculdade de Farmácia - LASSBio

Aim: Rolipram and other PDE 4 inhibitors have a broad spectrum of anti-inflammatory effects, including blockade of leukocyte trafficking, cytokine and chemokine release. In this work we investigated the effect of a novel rolipram analogue LASSBio 965 on lung inflammation and airways hyperreactivity in a murine model of asthma. **Methods and Results:** Sensitized and boosted AJ mice were subjected to i.n. instillation of ovalbumine (OVA, 25 µg) on days 19 and 20 post-sensitization. LASSBio965 (50 and 100 mg/kg, v.o.) or dexamethasone (DEX) (5 and 25 µg, i.n.) were administered 1 h before provocation. We noted that both LASSBio965 and DEX inhibited leukocyte infiltration into the airways lumen (neutrophils and eosinophils) and lung tissue (eosinophils via EPO measurements) 24 h post-challenge in a dose-dependent manner. EPO values (D.O.) reduced from 2.3 ± 0.04 (vehicle, n=8) to 0.4 ± 0.1 (LASSBio965, 100 mg/kg, n = 8) and 0.2 ± 0.07 (DEX 25µg, n=8). As compared to vehicle-treated animals (3.2 ± 0.4 Penh, n=8), LASSBio965 (100 mg/kg) (2.0 ± 0.2 Penh, n=8), but not DEX (25µg) treatment (2.8 ± 0.5 Penh, n=7), also inhibited allergen-evoked airways hyperreactivity (AHR) to methacholine (6 mg/ml) aerosol. **Conclusion:** These findings show that LASSBio965 administered orally inhibits airway inflammation and AHR following allergic provocation in sensitized A mice, under conditions where DEX abolished the former but not the latter. LASSBio965 should be further investigated as a putative anti-asthma medication. **Supported by:** CNPq, PRONEX-FAPERJ and IM-INOVAR

06.127

CURATIVE EFFECT OF FLUNISOLIDE AND NCX-1024 ON SILICA-INDUCED LUNG INFLAMMATION IN MICE.

Ferreira, T. P. T.¹; Lima, J. G. M.¹; Farias-Filho, F. A.¹; Arantes, A. C. S. de¹; Rocco, P. R. M.²; Garcia, C. S. N. B.²; Souza-Fernandes, A. B.³; Lagente, V.⁴; Cordeiro, R. S. B.¹; Martins, M. A.¹; Wallace, J. L.¹; Silva, P. M. R. e¹ - ¹ FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica; ² UFRJ - Investigação Pulmonar; ³ UFRJ - Instituto de Biofísica Carlos Cahgas Filho; ⁴ Université des Rennes - Faculté de Pharmacie

Introduction: Inhalation of crystalline silica dust leads to silicosis, a chronic fibrotic process, resistant to treatment so far. In this study, we investigated the effect of the curative treatment with flunisolide (FLU) and the nitrosteroid NCX-1024 on experimental silicosis in mice. **Methods:** Swiss-Webster mice were instilled intranasally (i.n.) with silica particles (10 mg) and the analyses of inflammatory parameters made on days 7, 14 and 28. Pulmonary mechanics were measured by the end-inflation occlusion method at the same time-points. **Results:** We found that silicotic mice exhibited a progressive leukocyte infiltration (mainly macrophages), collagen deposition and granuloma formation in the lungs. In parallel, airway resistance (central and peripheral) and static elastance increased significantly in the silicotic mice as compared to control group. Intranasal administration of FLU and NCX-1024 (0.005 and 0.022 $\mu\text{mol/kg}$), from 21-28 days, markedly inhibited leukocyte infiltration, collagen deposition and granuloma formation. In addition, both drugs significantly inhibited changes in lung mechanics of 28-day silicotic mice. **Conclusion:** Our findings indicate that FLU as well as NCX-1024 suppressed silica-induced inflammation and mechanical alterations in the lungs of mice, indicating that they seem to constitute a promising therapy for treatment of silicosis. **Supported by:** Support: CNPq, PAPES4/FIOCRUZ.

06.128

ACUTE PANCREATITIS INDUCED BY FRACTIONS OF *TITYUS SERRULATUS* SCORPION VENOM

Ferreira, T.¹; Camargo, E.¹; Antunes, E.¹; Nucci, G. de¹; Landucci, E. C. T.¹ - ¹UNICAMP - Farmacologia

Introduction: Acute pancreatitis is an inflammatory disease of the pancreas characterized by local tissue inflammation and remote effects such as lung injury. The crude brazilian scorpion *Tityus serrulatus* venom (TSV) promotes pancreatitis when injected into rats. Therefore, we have investigated the ability of fractions of TSV to induce acute pancreatitis. Methods: Crude venom was fractionated using HPLC column (250x10 mm i.d) where 29 fractions were obtained. The protein contents were measured by Lowry method. Saline (0.3 mL) or TSV fractions (30 µg/rat, dissolved in 200 µl of saline) were injected into the common bile duct of anaesthetized male Wistar rats (200-220 g). Four hours thereafter, the animals were sacrificed, and blood samples, pancreatic and lung tissues were collected. The pancreatic plasma extravasation and the pancreatic and lung myeloperoxidase activity (MPO) were measured. Results: Pancreatic plasma extravasation was increased by fractions 2-8 (34 %), 11-14 (29 %), 19-24 (43 %) (n=3 each), whereas pancreatic MPO was enhanced by fractions 19-28 (103 %) (n=3 each). In addition, lung MPO was increased by fractions 9-12 (52 %), 20-22 (65 %) (n=3 each). Discussion: Our results led us to suggest that active fractions of TSV responsible for the pancreatitis are between 9-12 and 19-23. **Supported by:** FAPESP

06.129

MEFENAMIC ACID AND ITS ZINC COMPLEX: SYNTHESIS, PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERIZATION AND PHARMACOLOGICAL ASSAYS.

Guilherme, V. A.¹; Araujo, D. R.²; Novaski, S. M. S.¹; De Paula, E.³; Ribeiro, M. C. A.¹ - ¹Faculdade de Americana - Pesquisa; ²UNICAMP - Biomembranas; ³UNICAMP - Bioquímica

Introduction: Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are widely used in medicine. However, toxic effects to the gastrointestinal system are the limiting factors to their clinical use. Metal complexes obtained by the coordination with Zn(II) and NSAIDs have showed more effective anti-inflammatory activities than their ligands relatives. This study aims to synthesize, characterize and evaluate anti-inflammatory and antiulcerogenic activities of a zinc-mefenamic acid (MA-Zn) metal complex. **Methods:** The metal complex MA-Zn was prepared by synthesis (1:1 molar ratio) and characterized by melting point, solubility and optical analysis ($\lambda_{\text{max}} = 340 \text{ nm}$). Male swiss mice were treated with MA and MA-Zn (14.5 mg/kg) by subcutaneously. Abdominal writhings test induced by 0.6% acetic acid and the model of gastric ulcer induced by hypothermal stress (-17 °C, 45') were used to evaluate the biological activities. **Results:** Physic-chemical characterization showed compounds with the form $\text{Zn}(\text{AM})_2$. The mp was found at 184 and 200 °C to MA-Zn and MA, respectively. Solubility assays showed a differential interaction of these compounds with apolar solvents. Treatment with MA-Zn reduced abdominal constrictions and ulcers in relation to free MA ($p < 0.05$). **Conclusion:** These results suggest that the metal complex Zn (II) is a more effective and less toxic formulation than the free ligand. **Reference:** Andrade, A. J. Inorg. Biochem. 81: 23, 2000; Soreson, J. R. J. Med. Chem. 19(1):135, 1976.

06.130

MODELO EXPERIMENTAL DE FLEBITE INDUZIDA POR VINOURELBINE NA VEIA DA CAUDA DE CAMUNDONGO

Tavora, A. C. V. C. F.¹; Melo, A. C. L.¹; Monteiro, T. C.¹; Souza, M. H. L. P.¹; Brito, G. A. C.¹; Albuquerque Ribeiro, R.¹ - ¹FM - UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: Vinorelbine (VNB) é um quimioterápico antineoplásico derivado da vinca com propriedades irritantes e vesicantes. Através de mecanismos ainda desconhecidos, no extravasamento durante sua administração endovenosa há risco de tromboflebite e necrose tissular local. Neste trabalho, desenvolvemos um modelo experimental para o estudo dos mediadores inflamatórios envolvidos na flebite induzida por VNB.

Métodos: Camundongos Swiss machos (20-30g) foram divididos em grupos (n=6) (Controle, 1h, 4h, 7h, 12h, 18h, 24h, 48h). Contidos em equipamento apropriado, receberam solução salina 0,9% ou VNB (6mg/kg, 12mg/Kg ou 24mg/kg) *ev* pela veia da cauda. Após os tempos determinados para cada grupo, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical. A cauda foi analisada macroscopicamente e segmentos com peso médio de 200mg submetidos a avaliação microscópica (após descalcificação com EDTA 10%), de migração de neutrófilos (ensaio de mieloperoxidase, MPO) e de aumento da permeabilidade vascular. Para esta última análise, Azul de Evans (AE) (2,5mg/Kg) foi injetado *ev* (plexo orbitário) 30min antes do sacrifício. **Resultados:** Os sinais macroscópicos de flebite foram dose e tempo-dependentes. A análise histopatológica (H&E) revelou lesão vascular com infiltrado predominantemente mononuclear e edema na parede do vaso principalmente 12h após VNB 12mg/kg. A quantidade de MPO/mg de tecido foi estatisticamente semelhante entre os grupos ($p>0,05$). No grupo VNB 12mg/kg, houve maior índice de extravasamento de AE ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tecido) 18h após a injeção ($p<0,01$). O extravasamento de AE foi estatisticamente semelhante ($p>0,05$) entre os camundongos sacrificados 18h após VNB 6mg/kg, 12mg/Kg ou 24mg/kg, porém houve tendência a maior extravasamento na dose de 12mg/kg. **Discussão:** Neste trabalho, VNB induziu flebite quando administrado na veia da cauda de camundongos. Houve hiperemia, aumento da permeabilidade vascular e migração de células inflamatórias ao local da injeção. Este modelo experimental simples e reprodutível permite o posterior estudo dos mediadores inflamatórios responsáveis por esta lesão. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.131

LESÃO TISSULAR INDUZIDA PELO EXTRAVASAMENTO DE VINORELBINE EM DORSO DE CAMUNDONGO

Tavora, A. C. V. C. F.¹; Monteiro, T. C.¹; Melo, A. C. L.¹; Souza, M. H. L. P.¹; Brito, G. A. C.¹; Albuquerque Ribeiro, R.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: Vinorelbine (VNB), um alcalóide da vinca, é um potente antineoplásico com propriedades irritantes e vesicantes. Através de mecanismos ainda obscuros, no extravasamento durante sua administração há risco de tromboflebite e necrose tissular local. Neste trabalho, desenvolvemos um modelo experimental para o estudo dos mecanismos fisiopatológicos destas lesões. **Métodos:** Camundongos Swiss machos (25-30g) separados em grupos (n=5) tiveram seu dorso depilado e dividido em seis quadrantes (QD). Em seguida, foram anestesiados (tribromoetanol) e receberam 20µL de SF0,9% (QD superiores), VNB 0,1mg (QD intermediários) e 0,5mg (QD inferiores) por via intradérmica (*id*). Após o tempo determinado para cada grupo (1/2h, 1h, 4h, 7h, 12h, 18h e 24h), foram sacrificados por deslocamento cervical. A pele foi dissecada, analisada macro e microscopicamente, por ensaio de mieloperoxidase (MPO) e de permeabilidade vascular. Neste último grupo, Azul de Evans (2,5mg/Kg) foi injetado *ev* (plexo orbitário) 30min antes do sacrifício.

Resultados: À macroscopia, a lesão de aparência necrótica teve diâmetro dose e tempo-dependente. A microscopia (H&E) revelou infiltrado inflamatório com predomínio linfomononuclear e edema; Azul de Toluidina mostrou máxima infiltração mastocitária 12h e pico de degranulação 24h após VNB 0,5mg. Nos animais sacrificados 18h após a injeção de VNB 0,1mg ($p<0,05$) e 0,5mg ($p<0,05$) houve maior detecção de MPO/tecido. O aumento da permeabilidade vascular foi significativamente maior ($p<0,01$) 30min após VNB 0,5mg. **Discussão:** VNB induziu lesão tissular com migração de células inflamatórias e aumento da permeabilidade vascular quando injetado via *id* em camundongos. Este modelo experimental simples e reprodutível possibilita o estudo dos mediadores inflamatórios responsáveis por este processo. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.132

ENDOTELINA-1 (ET-1) VIA RECEPTORES ET_B INDUZ HIPERNOCICEPÇÃO MECÂNICA DEPENDENTE DE PKCe E CANAL DE SÓDIO Na_v1.8 TTX-R EM RATOS.

Domingues, A. C.¹; Cunha, T. M.¹; Verri Jr., W. A.²; Ferreira, S. H.¹; Cunha, F. de Q.²; Parada, C. A.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²USP - FMRP

Introdução: ET-1 induz hipernocicepção mecânica via receptores ET_B. No entanto, os mecanismos moleculares para este efeito ainda não foram totalmente elucidados. O objetivo deste estudo foi avaliar a contribuição da PKCe e canal de sódio Na_v1.8 TTX-R na hipernocicepção mecânica induzida por ET-1. **Métodos:** A hipernocicepção mecânica foi avaliada por teste de pressão crescente na pata de ratos (Wistar). Injeção intratecal direta de ODN(20ug/10uL/dia) anti-sense ou mismatch para ET_B e TTX-R Na_v1.8 durante 4 dias. Os resultados serão expressos como Δ limiar de estímulo mecânico em gramas(média \pm EPM; n=5) ou como porcentagem de inibição. **Resultados:** A injeção intraplantar de ET-1 induziu hipernocicepção mecânica dose(3, 10, 30 e 90 pmoles/pata; 8,8 \pm 2,2; 13,2 \pm 1,8; 22,9 \pm 0,6; 22,1 \pm 1,1 respectivamente)-dependente comparado ao grupo salina (1,0 \pm 0,6). Este efeito foi inibido (71,9%) pelo pré-tratamento local dos animais com antagonista ET_B, mas não por um ET_A. O pré-tratamento intratecal com anti-sense para ET_B também inibiu (56,5%) hipernocicepção induzida por ET-1. Além disto, o pré-tratamento ipl. dos animais com um inibidor da PKCe (9ug; 60% inibição) bem como com anti-sense para Nav1.8(66,7% inibição) também inibiu o efeito hipernociceptivo da ET-1. **Discussão:** Esses resultados sugerem que ET-1 agindo em receptores presentes nos neurônios aferentes primários nociceptivos induz hipernocicepção mecânica provavelmente por ativar uma via intracelular que depende da PKCe culminando com a modulação do canal TTX-R/Nav1.8. **Apoio Financeiro:** FAPESP e CNPq

06.133

O EFEITO DA GASTRITE POR IODOACETAMIDE NO ESVAZIAMENTO GÁSTRICO EM RATOS ACORDADOS

Coelho, C. R.¹; Souza, M. H. L. P.¹; Mota, A. C. L.¹; Araujo, A. B.¹; Lopes, L. O.¹; Soares, P. M. G.¹ - ¹UFC - Farmacologia

O objetivo do presente trabalho é padronizar o modelo de gastrite por Iodoacetamide e avaliar o esvaziamento gástrico de líquidos em ratos acordados. A indução da gastrite é realizada através da adição de Iodoacetamine (0,1%) e sucrose (1%) na água de ratos Wistar, do sexo masculino (200-280g), além da gavagem de 1ml desta solução 2 vezes ao dia. O grupo controle recebe somente água suplementada com sucrose (1%). Após 5 dias de tratamento, os animais são sacrificados para realização de Esvaziamento Gástrico de 10, 20 e 30 minutos, além de retirada de fragmentos do estômago para avaliação da inflamação gástrica através de histologia e medida da atividade da mieloperoxidase (MPO). Observou-se, em todos os animais que receberam iodoacetamide, um enantema na mucosa. A avaliação da atividade de MPO, como um marcador da gastrite, demonstrou um aumento no grupo com gastrite ($19,76 \pm 2,97$), quando comparado com o grupo controle ($4,99 \pm 0,60$). Em relação ao grupo controle, o animal com gastrite apresentou uma significativa ($p < 0,05$) diminuição na retenção gástrica, após 10 min (Controle= $52,66 \pm 5,658$, Gastrite= $39,74 \pm 3,747$), 20 min (Controle= $40,70 \pm 5,296$, Gastrite= $25,49 \pm 5,358$) e 30 min (Controle= $35,93 \pm 4,071$, Gastrite= $23,20 \pm 2,423$) da refeição. Os resultados sugerem que a gastrite experimental por Iodoacetamide acelera o esvaziamento gástrico de líquidos em ratos acordados. **Apoio Financeiro:** CNPq/FUNCAP

06.134

AVALIAÇÃO DE CÉLULAS MONONUCLEARES EM PACIENTES COM NEOPLASIA DE COLO UTERINO EM DIFERENTES ESTADIAMENTOS. EFEITO DO TRATAMENTO.

Garcia, C. B.¹; Fernandes Jr., P. C.²; Pereira, A. H. M.¹; Micheli, D. C.¹; Tavares-Murta, B. M.¹; Murta, E. F. C.² - ¹UFTM - Ciências Biológicas; ²UFTM - Ginecologia e Obstetria

INTRODUÇÃO: Pacientes com câncer de diferentes origens podem apresentar alterações de funções de leucócitos, variáveis de acordo com o estadiamento da doença. **OBJETIVO:** Avaliar número e função de células mononucleares circulantes de pacientes com neoplasia de colo uterino, em relação ao estadiamento da doença, e o efeito do tratamento sobre esses parâmetros. **MÉTODOS E RESULTADOS:** Foram estudadas 27 pacientes com neoplasias de colo uterino, sem tratamento anterior, sendo 15 com diagnóstico de neoplasia intraepitelial cervical (NIC) III ou carcinoma microinvasivo (Grupo NIC/MICRO), submetidas à cirurgia como conduta terapêutica, e 12 com carcinoma invasivo (Grupo INV), com indicação para quimioterapia. Voluntárias sadias (n=29) participaram como Grupo Controle. A análise do leucograma das pacientes no momento do diagnóstico revelou alteração na relação neutrófilo/linfócito (NLR) e neutrófilo/célula mononuclear (NMR). $NLR \geq 5$ e $NMR \geq 4$ foram observados em apenas 1 (7%) paciente do grupo NIC/MICRO, comparado a 8 (67%) pacientes do grupo INV ($p < 0,05$). Comparando valores absolutos de monócitos e linfócitos, apenas 1 (7%) paciente no grupo NIC/MICRO e 5 (42%) pacientes do grupo INV tiveram alteração na contagem total de monócitos circulantes ($p = 0,065$); nenhuma paciente do grupo NIC/MICRO apresentou contagem de linfócitos circulantes alterada, enquanto que no grupo INV 5 (42%) pacientes apresentaram este tipo de alteração ($p < 0,05$). A quimiotaxia das células mononucleares, purificadas do sangue periférico em dois intervalos (pré e pós tratamento), foi avaliada em microcâmara em resposta aos estímulos (10^{-7} M) fMLP, MCP-1 e RANTES, comparados ao RPMI. Foi observada migração das células mononucleares no grupo total de pacientes (n=25) e no grupo controle (n=23), sem diferenças entre esses grupos. Da mesma forma não foram observadas diferenças considerando o estadiamento. Após o tratamento cirúrgico ou quimioterápico (n=15), a migração foi maior em relação ao RPMI, MCP-1 e RANTES comparado ao intervalo pré tratamento ($p < 0,05$). O ensaio de fagocitose foi realizado utilizando-se zimozan sensibilizado como partícula fagocítica, e os resultados expressos pelo índice fagocítico (IF). As células mononucleares das pacientes (n=21) apresentaram IF semelhante ao grupo controle (n=24). Considerando o estadiamento, não houve diferença significativa no IF entre as pacientes do grupo NIC/MICRO (n=13) comparado ao grupo INV (n=8). O IF mostrou-se reduzido ($p < 0,05$) no intervalo pós-tratamento nas pacientes (n=13), comparado ao tempo no diagnóstico. **CONCLUSÕES:** Em pacientes com neoplasia de colo uterino, alterações no número de linfócitos circulantes e maior NLR foram associadas aos estadiamentos avançados. O tratamento interferiu na função quimiotática e fagocítica das células mononucleares.

06.135

AVALIAÇÃO DO NÚMERO E FUNÇÃO DE NEUTRÓFILOS EM PACIENTES COM NEOPLASIA DE COLO UTERINO

Fernandes Jr., P. C.¹; Garcia, C. B.²; Pereira, A. H. M.²; Micheli, D. C.²; Tavares-Murta, B. M.²; Murta, E. F. C.¹ - ¹UFTM - Ginecologia e Obstetrícia; ²UFTM - Ciências Biológicas

INTRODUÇÃO: Pacientes com câncer podem apresentar aumento na incidência e/ou gravidade de infecções, induzidas por alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro, pela própria doença desencadeante e/ou por drogas utilizadas no tratamento da mesma. **OBJETIVO:** Verificar se pacientes com neoplasia de colo uterino, em diferentes estadiamentos, apresentam alterações no número e/ou função quimiotática e fagocítica de neutrófilos circulantes e o efeito do tratamento sobre esses parâmetros. **MÉTODOS E RESULTADOS:** Foram estudadas 21 mulheres sadias voluntárias (Grupo Controle) e 23 pacientes, sendo 11 diagnosticadas como NIC alto grau ou carcinoma microinvasivo (Grupo NIC/MICRO) e 12 como carcinoma invasivo (Grupo INV) através de biópsia. De acordo com o estadiamento, as pacientes foram submetidas à cirurgia (grupo NIC/MICRO) ou quimioterapia (grupo INV). A análise do leucograma no momento do diagnóstico mostrou que apenas 1 (10%) paciente do grupo NIC/MICRO tinha relação neutrófilo/linfócito ≥ 5 , comparado a 8(67%) pacientes do grupo INV ($p < 0,05$). As pacientes (Grupo total) apresentaram quimiotaxia de neutrófilos frente aos estímulos (fMLP, LTB₄ e IL-8; 10^{-7} M) comparado à migração aleatória (RPMI), porém menor para LTB₄ e IL-8 comparado ao grupo controle ($p < 0,05$). Ainda, os neutrófilos das pacientes do grupo INV tiveram quimiotaxia reduzida a todos os estímulos quimiotáticos comparado ao grupo NIC/MICRO. Após o tratamento cirúrgico (cerca de 30 dias) houve aumento da migração dos neutrófilos em resposta ao fMLP, LTB₄ e IL-8, em pacientes do grupo NIC/MICRO. A função fagocítica avaliada utilizando zimosan sensibilizado como partícula fagocítica não demonstrou diferença entre controles e pacientes, mas considerando o estadiamento o índice fagocítico (IF) foi menor em pacientes do grupo INV comparado ao grupo NIC/MICRO ($p = 0,015$). Não foi observada variação significativa quanto ao IF antes e após cirurgia em pacientes do grupo NIC/MICRO. **CONCLUSÕES:** O estadiamento mais avançado no câncer cervical é fator determinante para o aumento do número de neutrófilos circulantes e redução da função dessas células. A retirada da lesão aumentou a capacidade de migração dos neutrófilos frente aos estímulos quimiotáticos.

06.136

MYOFIBROBLASTS AND MAST CELLS EXPRESS CYCLOOXYGENASE-2 IN IFOSFAMIDE INDUCED HEMORRHAGIC CYSTITIS

Macedo, F. Y. B. de¹; Baltazar, F.²; Almeida, P. R. C.³; Tavora, F.⁴; Albuquerque Ribeiro, R.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²Universidade do Minho - Escola de Ciências da Saúde; ³UFC - Patologia; ⁴University of Maryland - USA - Pathology

Aims: We already demonstrated cyclooxygenase-2 (COX-2) expression on ifosfamide (IFS) induced hemorrhagic cystitis (HC) mainly within subepithelial cells. Therefore, we investigate in which subepithelial cells COX-2 is expressed. **Methods:** Male Wistar rats (150-200g, n=6) were treated with IFS (400mg/kg, ip), or saline ip. HC was evaluated 24 h after IFS administration by the bladder wet weight (BWW), macroscopic and microscopic analysis (Gray's criteria) and COX-2 immunohistochemistry with monoclonal antibody. In the same paraffin blocks new immunohistochemistry was carried out against CD1a, CD3, CD4, CD20, CD45, CD68, CD117, CD138, Factor XIIIa, S100, vimentin, calponin and actin. **Results:** IFS produced increase on BWW (155% when compared to control group, $p < 0,05$), macroscopic and microscopic alterations. Those cells with a very strong positivity for COX-2, were also stained for CD117, vimentin and actin, suggesting the participation of mast cells and myofibroblasts upon COX-2 expression on IFS induced HC. **Discussion:** Mast cells and myofibroblasts seem to play an important role on the pathogenesis of IFS induced HC, and are essential cells on COX-2 expression on inflamed bladders. **Supported by:** CNPq, CAPES and FUNCAP.

06.137

RELATION BETWEEN MELATONIN AND TNF α SECRETION IN DAY AND NIGHT COLOSTRUM FROM MOTHERS THAT DELIVERED BY CAESAREAN

Pontes, G. N.¹; Cardoso, E. C.²; Carneiro-Sampaio, M. M. S.³; Markus, R. P.⁴ - ¹USP - Fisiologia; ²USP - Imunologia; ³FM - USP - Pediatria; ⁴IB - USP - Fisiologia

Introduction: Melatonin secretion in the colostrum reflects pineal production. In mothers with mastitis, who show high levels of TNF α , no melatonin rhythm is observed (Pontes et al., J. Pineal Res., 2006, in press). In rodents melatonin production is inhibited by TNF α transiently (Ferreira et al., J. Pineal Res., 2006, in press). Here we tested if promoting an inflammatory response by a surgical injury (caesarae) the inverse relation between melatonin and TNF α production could be confirmed. In addition, since the time between the beginning of the inflammatory response is longer in this model than in the mastitis model we also tested if the response was transient. **Materials and Methods:** Colostrum samples were obtained 48–72 hours after cesarean delivery, at day (d) and night (n). **Results:** Melatonin and TNF α content (measured by ELISA) showed no d/n variation. Three out of 9 mothers did not secrete TNF α , and had high levels of melatonin ($d=51.0\pm 15$; $n=60.2\pm 19.3$ pg/ml), while the other six secreted high TNF α ($d=102.1\pm 26.7$; $n=110.8\pm 27.9$ pg/ml) and had low melatonin levels ($d=7.0\pm 1.5$; $n=6.87\pm 1.8$ pg/ml). **Discussion:** This was not an adequate model for evaluating the restoration of melatonin nocturnal surge. However, the present data reinforce the hypothesis that melatonin production can be controlled by circulating cytokines. Specifically TNF α promotes an inhibition of melatonin production and is a strong candidate for being a messenger in the regulation of pineal function by the inflammatory response. **Supported by:** FAPESP, CNPq

06.138**AGE-DEPENDENT INFLAMMATORY RESPONSES IN RATS SUBJECTED TO ENDOTOXIN-INDUCED UVEITIS**

Passos, G. F.¹; Medeiros, R.¹; Rodrigues, G. B.¹; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia

Purpose: Ageing is associated with several ocular diseases such as cataract, macular degeneration, open angle glaucoma and diabetic maculopathy. Therefore, the objective of the present study is to determine the effect of ageing on endotoxin-induced uveitis (EIU) in rats. *Methods:* EIU was induced by a s.c. injection into one hind paw of lipopolysaccharide (LPS, 200 µg/paw, 24 h) in either young (2-month-old) or old (16-month-old) male Wistar rats. Inflammatory cell number and the levels of interleukin (IL)-1β, tumor necrosis factor (TNF)α and protein in the aqueous humor (AqH) were evaluated. We have also performed histological analysis of iris ciliary body (ICB) and retina. *Results:* In young animals, the LPS treatment markedly increased the number of inflammatory cells, the protein leakage, and the levels of IL-1β and TNFα in the AqH, as compared to saline-treated animals. Furthermore, the histological analysis revealed the presence of a substantial number of inflammatory cells on ICB and retina of LPS-treated young rats. In comparison, the LPS-treated old animals presented a significant reduction in the inflammatory response, including a lower cellular infiltration, protein extravasation, and IL-1β and TNFα levels (inhibitions of 95, 79, 76 and 100 %, respectively) in the AqH. In these animals, we observed no alteration on ICB and retina histology. *Conclusions:* Data obtained demonstrate a reduced ocular inflammatory response in LPS-treated old rats. This study may contribute to a better understanding of the effect of ageing on the development of ocular diseases. **Supported by:** CNPq, PRONEX, CAPES

06.139

PRO-INFLAMMATORY ACTIVITY INDUCED BY A KUNITZ-TYPE INHIBITOR FROM *Dimorphandra mollis* SEEDS

Mello, G. C.¹; Desouza, I.²; Macedo, M. L. R.³; Antunes, E.² - ¹FCM - UNICAMP - Depto Farmacologia; ²UNICAMP - Farmacologia; ³UNICAMP - Bioquímica

Plant proteinase inhibitors have been described as useful tools in biochemical and physiological studies to understand the proteinase functions in human pathologies, e.g., hemorrhage, inflammation and cancer. In a recent study, we have investigated the oedematogenic activity of DMTI-II (20 kDa), a serine proteinase inhibitor Kunitz-type isolated from *D. mollis* (Leguminosae-Mimosoideae) seeds. Injection of DMTI-II (3–100 mg/paw) induced a dose-dependent rat paw oedema of rapid onset and short duration, where mast cells and sensory fibers seem to play a pivotal role. Since this proteinase inhibitor is known to present inflammatory activity, this study aimed to investigate the leukocyte migration induced by DMTI-II. Male Wistar rats (180-200g) were intraperitoneally injected with DMTI-II (3-30 mg/cavity). Four and sixteen h thereafter the total and differential leukocyte counts were performed in peritoneal lavage fluid. DMTI-II (10 mg/cavity) induced significant total leukocyte accumulation at 4 and 16 h after injection. Neutrophil and eosinophil counts were increased at 4 h (16 and 14-fold increase, respectively), reaching a maximum response at 16 h (22 and 17-fold increase, respectively). The presence of early eosinophils starting from 4 h is not a common event in the experimental models of the inflammatory response. Further investigation is necessary to elucidate the mechanism of DMTI-II action as well as the inflammatory mediators involved.

06.140

PREVENTIVE AND THERAPEUTIC ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF THALIDOMIDE ON ENDOTOXIN-INDUCED UVEITIS IN RATS

Rodrigues, G. B.¹; Medeiros, R.¹; Passos, G. F.¹; Rodrigues, E. B.¹; Grumman-Jr, A.¹; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia

Purpose: To determine the systemic and topical anti-inflammatory effects of thalidomide (Thal) in rats subjected to endotoxin-induced uveitis (EIU). *Methods:* EIU was produced by a hindpaw injection of lipopolysaccharide (LPS, 200 mg/rat, 24 h prior) in Wistar rats. Thal (5, 25, 50 mg/kg) was orally administrated 1 h before LPS. In other set of experiments, Thal 5 % was topically applied in rat eyes at 6, 12 and 18 h after EIU. Inflammatory cell number and levels of interleukin (IL)-1 β , tumor necrosis factor (TNF) α , and protein, in the aqueous humor (AqH) were determined. Also, the expression of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cicloxygenase (COX)2 in the retina were assessed by western blot. *Results:* The systemic Thal-treatment decreased in a dose-dependent manner the number of inflammatory cells, the protein leakage, and the levels of IL-1 β and TNF α , in the AqH with a mean ID₅₀ of 7 (4-11), 35 (21-58), 35 (26-59) and 17 (8-34) mg/kg, respectively. Similar results were verified when Thal 5 % was topically applied after LPS injection. As well, Thal significantly reduced the expression of both COX2 and iNOS enzymes in the retina. *Conclusions:* Data obtained indicate that Thal exhibit a marked systemic and topical ocular anti-inflammatory properties in rats with EIU, an effect that seems to be associated with its ability to inhibit the production and/or expression of inflammatory proteins. Together, these results suggest that Thal represents a promising agent for the management of ocular diseases. **Supported by:** CNPq, FAPESC, PRONEX, CAPES

06.141

PAPEL DA VIA NO/cGMP/K_{ATP} NO EFEITO PROTETOR DO SILDENAFIL NA LESÃO GÁSTRICA INDUZIDA POR ÁLCOOL EM RATOS

Medeiros, J-V. R.¹; Gadelha, G. G.¹; Lima, S. J.¹; Fonseca, J. A.¹; Santos, A. A.¹; Brito, G. A. C.²; Albuquerque Ribeiro, R.¹; Souza, M. H. L. P.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFC - Morfologia

INTRODUÇÃO/OBJETIVOS: O objetivo deste trabalho foi investigar se o sildenafil possui efeito protetor contra a lesão induzida por álcool, e avaliar o papel da via NO/cGMP/K_{ATP} no efeito gastroprotetor do sildenafil. **MATERIAL E MÉTODOS:** Sildenafil (0.1, 0.3, 1, ou 3mg/Kg, *v.o*) foi administrado 30 min antes do etanol 100% (4ml/Kg, *v.o*). Depois de 1 h, os estômagos foram abertos para determinação da área da lesão usando planimetria computadorizada. Além disso, fragmentos de tecidos foram removidos para análise microscópica e dosagem de glutathione e hemoglobina (colorimetria). Os outros grupos foram tratados com L-NAME (1 ou 3mg/kg, *i.p*), L-NAME (3 mg/kg, *i.p*) + L- Arg (200mg/kg, *i.p*), ODQ (10 mg/Kg, *v.o*), glibenclamida (0.1, 0.3, 1 ou 3mg/Kg, *v.o*), glibenclamida (1mg/Kg) + diazóxido (3mg/Kg, *i.p*) ou salina. Após 30 min os ratos receberam sildenafil (1mg/kg) e depois de mais 30 min etanol 100% (4ml/kg, *v.o*), com o sacrifício ocorrendo 1 h depois. **RESULTADOS:** O etanol 100% causou lesão gástrica (158.9 ± 9.3 mm²), hemorragia na mucosa (3787.0 ± 512.9 mg/100mg) e redução da concentração de glutathione (78.7 ± 9.5 mg/g). O Sildenafil protegeu, de forma dose-dependente, a mucosa gástrica do efeito do álcool, com o efeito máximo na dose de 1 mg/Kg (44.5 ± 7.7 mm²). O sildenafil também reverteu a diminuição da glutathione (143.6 ± 15.7 mg/g) induzida por etanol. O L-NAME sozinho (151.1 ± 20.9 mm²), o ODQ (137.9 ± 41.6 mm²) e a glibenclamida sozinha (137.1 ± 16,7 mm²) reverteram a proteção do sildenafil. Mas, nos animais tratados com L-NAME + L-arginina (30.9 ± 10.5 mm²) ou glibenclamida + diazóxido (60.3 ± 2.0 mm²) não houve mudanças no efeito do sildenafil. **CONCLUSÕES:** Sildenafil protegeu a mucosa gástrica contra a lesão gástrica induzida por álcool, através da ativação da via NO/cGMP/K_{ATP}. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq

06.142

EFEITO PROTETOR DA AMIFOSTINA NA LESÃO GÁSTRICA POR ETANOL EM RATOS – PAPEL DE GRUPOS SULFIDRILAS

Mota, J. M. S. C.¹; Nogueira, A. C. P.¹; Brito, S.¹; Junqueiro-Junior, J.¹; Medeiros, J-V. R.¹; Brito, G. A. C.¹; Albuquerque Ribeiro, R.¹; Souza, M. H. L. P.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: Avaliamos o efeito protetor da amifostina (AMF) na lesão gástrica (LG) por etanol e o papel de grupos sulfidrilas não-protéicos (NP-SH) nesta proteção. **Métodos:** Ratos Wistar (180-240 g) receberam AMF (45, 90 ou 180 mg/kg) ou salina por gavagem trinta minutos antes da administração de etanol absoluto (5 ml/kg) ou salina (grupo controle). Uma hora depois, os animais foram sacrificados, os estômagos excisados e a porcentagem de área lesada (AL) mensurada por planimetria pelo programa ImageJ 1.34 S. Fragmentos de mucosa foram colhidos para dosagem por reações colorimétricas de Hemoglobina (Hb), para quantificar o sangramento, e de NP-SH. **Resultados:** Etanol causou extensa lesão da mucosa gástrica e aumento da concentração de Hb (AL=26,3 ± 3,7%, Hb= 3256 ± 444,6 mg/g) em comparação com o grupo controle (AL=0%, Hb= 1418 ± 288,9 mg/g) e o pré-tratamento com AMF reverteu (p<0,05) estes efeitos nas doses de 45 (AL=10,2 ± 3,5%, Hb= 2015 ± 300,7 mg/g), 90 (AL=8,4 ± 1,3%, Hb= 1525 ± 37,78 mg/g) e 180 mg/kg (AL=2,63 ± 0,9%, Hb= 1818 ± 430,8 mg/g). Etanol reduziu (p<0,05) a concentração de NP-SH na mucosa gástrica (78 ± 19,4 mg/g) em comparação com o grupo controle (234 ± 26,4 mg/g). AMF reverteu este efeito (p<0,05) nas doses de 45 (227,3 ± 48,6 mg/g), 90 (229,6 ± 19,8 mg/g) e 180 mg/kg (397 ± 43,6 mg/g).

Conclusão: AMF tem efeito protetor na LG por etanol possivelmente via aumento de NP-SH. **Apoio Financeiro:** Cnpq

06.143

MODELO EXPERIMENTAL DE MUCOSITE INTESTINAL (MI) INDUZIDA PELO CLORIDRATO DE IRINOTECANO (CPT-11) EM CAMUNDONGOS.

Costa, L. B. E.¹; Freitas, H. C.¹; Melo, M. L. P.¹; Parahyba, V. P.¹; Soares, R. C.¹; Albuquerque Ribeiro, R.¹ -
¹UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: O CPT-11 é um inibidor de topoisomerase utilizado no tratamento de tumores sólidos (côlon, estômago, pulmão etc). Um de seus efeitos colaterais mais importantes é a diarreia, que tem um componente precoce e outro tardio (24h e entre 5-7 dias pós administração, respectivamente). Contudo, a patogênese da diarreia tardia não está completamente esclarecida. O objetivo deste trabalho foi desenvolver um modelo de MI induzido por CPT-11 em camundongos *Swiss* e *C57/BL6*. Métodos: os camundongos (20-30g) receberam dose diária ip de salina ou CPT-11 de 50, 75 e 100mg/kg/dia por quatro dias consecutivos. A diarreia foi avaliada utilizando-se escore previamente descrito (Kase *et al.*, *Jpn J Pharmacol*, v.75, p. 399, 1997) e os animais foram sacrificados no 7º dia. Foi realizada dissecação do duodeno, análise morfométrica dos vilos e criptas e dosagem de mieloperoxidase (MPO) por ELISA. Resultados: A diarreia iniciou a partir do 5º dia (100mg/kg/d, $p < 0,001$), persistindo no 6º e 7º dias (75mg/kg/d, $p < 0,05$; 100mg/kg/d, $p < 0,001$). Houve também redução significativa no comprimento dos vilos intestinais ($p < 0,01$) no grupo do CPT-11, além de aumentos significativos de MPO ($p < 0,01$) nas doses de 75 e 100, comparados ao grupo controle (controle: 0,43 +/- 0,14 UMPO/mg de tecido; CPT-11 75: 2,15 +/- 0,31UMPO/mg; CPT-11 100: 2,58 +/- 0,71UMPO/mg). Conclusão: a administração de CPT-11 induz MI em camundongos *Swiss* e *C57/BL6*. O desenvolvimento deste modelo permitirá o estudo dos mecanismos e mediadores envolvidos na MI induzida por CPT-11 e sua possível modulação farmacológica

06.144

ESTUDO DA MODULAÇÃO DE CORPÚSCULOS LIPÍDIOS EM CÉLULAS EPITELIAIS

de Souza Moreira, L.¹; Piva, B.¹; Bandeira-Melo, C.²; Diaz, B. L.¹ - ¹INCA - Biologia Celular, CPQ; ²FIOCRUZ - Fisiol. e Farmacodinâmica, IOC

INTRODUÇÃO: Corpúsculos lipídicos (CLs) são inclusões citoplasmáticas que participam do metabolismo de lipídeos e formação de mediadores a partir de ácido araquidônico (AA). PGE₂ é o principal metabólito do AA produzido por células epiteliais, sendo capaz de modular a motilidade, sobrevivência celular, proliferação celular e angiogênese. **OBJETIVO:** Analisar a indução de CLs por mediadores inflamatórios, as vias de sinalização intracelular envolvidas, e a modulação de CLs durante a proliferação e migração celular. **MÉTODOS:** CLs foram avaliados em linhagem celular de epitélio intestinal (IEC-6) através da marcação com OsO₄ e contagem por microscopia de campo claro. A expressão de proteínas foi analisada por SDS-PAGE e a produção de PGE₂ por ELISA. **RESULTADOS:** IEC-6 confluentes não apresentaram CLs, enquanto células não-confluentes possuíam 21,2±1,6 CLs/célula. A deprivação de FBS reduziu em 97,6% este número de CLs. Estímulos inflamatórios em células confluentes, como IL-1b, PAF e PMA não alteraram o número de CLs. Adição de AA (1-30mM) induziu a formação de CLs de maneira dose-dependente. PGE₂ (1-10mM), ou tratamento com inibidores de COXs (NS398 e Salicilato de Valeril), MEK ½, e JNK 1/2/3 não interferiram na indução de CLs por AA, enquanto o inibidor de p38 (SB202190 15 µM) reduziu em 56% a formação dessas estruturas. **CONCLUSÃO:** Nossos resultados indicam uma forte relação entre a biogênese de CLs e proliferação celular, e que essas organelas são induzidas de forma estímulo-específica em células epiteliais. **Apoio Financeiro:** CNPq e FAPERJ

06.145

MUCOSITE INTESTINAL POR METOTREXATO RETARDA O ESVAZIAMENTO GÁSTRICO E TRÂNSITO GASTRINTESTINAL DE LÍQUIDOS EM RATOS ACORDADOS

Soares, P. M. G.¹; Lopes, L. O.¹; Mota, A. C. L.¹; Coelho, C. R.¹; Mota, J. M. S. C.¹; Santos, A. A.¹; Brito, G. A. C.²; Albuquerque Ribeiro, R.¹; Souza, M. H. L. P.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFC - Morfologia

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS: Mucosite intestinal é condição decorrente da terapia antineoplásica. Metotrexato (MTX), antagonista do ácido fólico, pode induzir mucosite intestinal que é caracterizada por eventos inflamatórios, ulceração do epitélio da mucosa. MTX pode induzir sintomas do tipo dismotilidade e eventos dispépticos. Assim, objetivou-se avaliar as alterações de esvaziamento gástrico em animais com mucosite intestinal induzida por MTX. **MÉTODOS:** Ratos Wistar (150 a 180g), receberam MTX (2,5 mg/kg por 3 dias, s.c.) ou salina (controle). Após 3 dias, os animais foram sacrificados e os segmentos intestinais (duodeno, jejuno e íleo) foram retirados para análise morfométrica e dosagem da atividade de mieloperoxidase (MPO). Em outro grupo experimental, após 3 dias da indução de mucosite por MTX ou salina (controle), os ratos foram alimentados (1.5 ml, v.o.) com a refeição teste (0.5 mg/ml de vermelho fenol em SG a 5%). Após 10, 20 e 30 minutos, foram sacrificados e a retenção fracional do corante no estômago e nas porções (P1, P2, P3, P4, P5) do intestino delgado foram determinadas. **RESULTADOS:** Houve redução na razão altura dos vilos/profundidade de criptas em relação ao controle com valores significantes para o duodeno ($C= 2,52 \pm 0,33 / d3= 0,70 \pm 0,08$, $n=5$, $p<0,05$), jejuno ($C= 1,90 \pm 0,37 / d3= 0,76 \pm 0,12$, $n=5$, $p<0,05$) e íleo ($C= 0,99 \pm 0,09 / d3= 0,64 \pm 0,12$, $n=5$, $p<0,05$) com aumento da atividade de MPO para o duodeno e íleo, 156,92% ($n=6$, $p<0,05$) e 173,91% ($n=5$, $p<0,05$), respectivamente, no 3 dia experimental. Observou-se retardo no esvaziamento gástrico 10 min ($82,99 \pm 7,09\%$, $n=5$, $p<0,05$), 20 min ($81,77 \pm 9,90\%$, $n=5$, $p<0,05$) e 30 min ($81,99 \pm 9,45\%$, $n=5$, $p<0,05$). Também observou-se uma menor retenção de corante nos segmentos P2 e P3 do intestino quando comparadas com o controle. **CONCLUSÕES:** MTX induz processo inflamatório na mucosa intestinal e retarda o esvaziamento gástrico e trânsito gastrintestinal de líquidos em ratos acordados. Essas alterações podem explicar em parte a dispepsia associada ao uso de antineoplásicos. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.146

ATIVIDADES DE AMINOPEPTIDASES EM MACRÓFAGOS (Mfs) MURINOS DURANTE A FAGOCITOSE

Olivo, R. A.¹; Zuliani, J. P.¹; Silveira, P. F.¹; Teixeira, C. F. P.¹ - ¹Instituto Butantan - Farmacologia

Introdução: As aminopeptidases são enzimas relevantes para a adesão celular e modulação de mediadores inflamatórios liberados por Mfs. Esse estudo avaliou possíveis alterações das atividades aminopeptidásicas (AP) básica (APB), neutra (APN) e prolil dipeptidil IV (DPPIV) em fração solúvel (S) e de membrana (M) de Mfs murinos, em processos de fagocitose, via receptores de complemento (C), de b-glucano e de Fcg.

Métodos: Os Mfs foram coletados do peritônio de camundongos Swiss machos, 96h após a injeção de tioglicolato 3% e incubados com partículas de zimosan opsonizado ou não, ou hemácias de carneiro, para avaliação da fagocitose via receptores de C, b-glucano e Fcg, respectivamente. As atividades APB, APN e DPPIV foram quantificadas por fluorimetria, utilizando substratos derivados da naftilamida. **Resultados:** A atividade APB-S foi diminuída durante a fagocitose via receptores de C e de Fcg e não foi alterada via receptor de b-glucano, em relação as células não estimuladas (controle). A atividade APN-M não foi alterada em nenhum dos protocolos experimentais, porém foi diminuída na fração S de Mfs em fagocitose pelos três receptores estudados. Quanto à DPPIV, a atividade de M foi aumentada somente durante a fagocitose via receptor de C e a atividade S foi aumentada quando os três tipos de receptores para fagocitose foram ativados.

Discussão: Em conjunto, os dados indicam que o processo de fagocitose altera positiva ou negativamente as atividades AP de Mfs, predominantemente na fração S. Ainda, as alterações observadas nas atividades AP não são mediadas seletivamente por uma única via de ativação da fagocitose. **Apoio Financeiro:** FAPESP

06.147

IL-15 AND IL-18 MEDIATE TH1-LIKE INFLAMMATORY HYPERNOCEPTION TRIGGERING THE SAME DOWN STREAM SIGNALING PATHWAY

Verri Jr., W. A.¹; Cunha, T. M.²; Parada, C. A.²; Liew, F. Y.³; Ferreira, S. H.²; Cunha, F. de Q.¹ - ¹USP - FMRP; ²FMRP - USP - Farmacologia; ³University of Glasgow - Immunology

Introduction IL-15 and IL-18 mediate rheumatoid arthritis (RA) inflammation in mice. Articular pain accompanies RA and IL-15 targeting therapy diminishes clinical RA severity. Thus, it was evaluated if IL-15 or IL-18 intraplantar (ipl) injection induces mechanical hypernociception in mice, mechanisms and role in Th1-like inflammation. **Methods** Inflammation was induced by ovalbumin (OVA) ipl challenge in immunized mice. Hypernociception was determined using the electronic pressure-meter test, and the mechanisms evaluated using drug treatments, knockout mice, ELISA and PCR. **Results** IL-15 or IL-18 ipl injection induced hypernociception via IFN γ , endothelin and prostanoids (60% inhibition). IL-15 induced paw skin IFN γ (20pg) and ET-1 (100pg) productions, and Prepro(PP)ET-1 mRNA expression (5 fold increase). These last two effects depended on IFN γ . OVA induced 1) IL-15-, IFN γ -, ET-1- and prostanoids-dependent (at least 60%) hypernociception; 2) IL-15- and IFN γ -dependent PPET-1 mRNA expression (100%), and 3) IL-15-dependent IFN γ production (87%). IL-15 and IL-18 hypernociception were independent of each other. IL-18 also mediated OVA 1) hypernociception and, 2) IFN γ and ET-1 productions (at least 75%). IL-15, IL-18, IFN γ and ET-1 induced PGE₂ production (13 fold increases). Similar experiments suggested that IFN γ , ET-1 and PGE₂ sequentially mediate OVA hypernociception. **Discussion** Concluding, IL-15 and IL-18 mediate Th1-like inflammatory hypernociception triggering the same sequential pathway: IFN γ à ET-1 à PGE₂ à nociceptor sensitization. **Supported by:** FAPESP, CNPq, CAPES, FAEPA

06.148

O C-TERMINAL DA PROTEÍNA S100A9 MURINA INIBE A HIPERALGESIA INDUZIDA PELO PEPTÍDEO AGONISTA DE RECEPTOR ATIVADO POR PROTEASE DO TIPO 2 (PAR₂)

Dale, C. S.¹; Cenac, N.²; Britto, L. R. G.³; Juliano, M. A.⁴; Juliano, L.⁴; Vergnolle, N.²; Giorgi, R.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia; ²University of Calgary - Pharmacology and Therapeutics; ³ICB - USP - Fisiologia e Biofísica; ⁴UNIFESP - EPM - Instituto de Farmacologia

Introdução: A proteína S100A9 induz antinocicepção em animais avaliados em diferentes modelos de dor experimental. O presente trabalho investigou os efeitos do C-terminal da proteína S100A9 (pS100A9m) na hiperalgesia induzida por um peptídeo agonista de PAR₂ (PAR₂AP). **Métodos e Resultados:** ratos foram avaliados no modelo de pressão de pata (hiperalgesia mecânica) e no plantar test (hiperalgesia térmica). O pS100A9m, em diferentes concentrações, inibiu tanto a hiperalgesia mecânica quanto térmica, induzidas pela injeção intraplantar (i.pl.) de PAR₂AP, quando administrado concomitante ou 30 minutos antes do agonista. A injeção i.pl. de PAR₂AP induziu um aumento na expressão de *egr-1* no corno dorsal da medula de ratos avaliados por imuno-histoquímica. Este efeito foi revertido pelo tratamento concomitante com o pS100A9m. A mobilização de cálcio em neurônios do gânglio dorsal em resposta ao PAR₂AP também foi inibida pelo tratamento com pS100A9m. **Discussão:** Esses dados sugerem que o pS100A9m interfere com mecanismos envolvidos na nocicepção e hiperalgesia e modula, possivelmente em neurônios sensoriais o sinal nociceptivo induzido por PAR₂. **Apoio Financeiro:** FAPESP, CAPES e Canadian Institute for Health Research.

06.149

EFEITO ANTIHIPERNOCICEPTIVO DE ENDOCANABINÓIDE É MEDIADO POR RECEPTORES μ E κ -OPIÓIDES.

Zanoni, C. I. S.¹; Sachs, D.¹; Moreira, F.¹; Funez, M. I.²; Ferrari, L. F.¹; Ferreira, S. H.¹; Parada, C. A.¹ -
¹FMRP - USP - Farmacologia; ²USP - Farmacologia

INTRODUÇÃO: Estudos demonstram que agonistas canabinóides, como a anandamida (endocanabinóide não seletivo para receptores CB₁ e CB₂) reduzem a nocicepção, avaliada pelo teste da placa quente, assim como alodinia mecânica e hipernocicepção térmica em modelo de dor neuropática, em animais de experimentação. Há evidências experimentais demonstrando que a ativação de receptores CB₂ resulta na liberação de endorfinas, as quais poderiam ativar receptores opióides, que estão associados a antinocicepção. Os mecanismos celulares envolvidos neste efeito são pouco esclarecidos. Portanto, este trabalho tem como objetivo verificar a participação do sistema opióide endógeno no efeito analgésico induzido por anandamida (AD) em modelo de hipernocicepção mecânica aguda induzida por PGE₂. **MÉTODOS E RESULTADOS:** Ratos Wistar machos (180g), receberam injeção subcutânea intraplantar (ipl) de prostaglandina E₂ (100ng/pata, n=5 ratos) resultando em hipernocicepção (28,9±0,4). A administração de AD (0,3ng/pata, N=5, ipl) 30 minutos antes da PGE₂ reduziu a hipernocicepção mecânica, avaliada pelo método de pressão crescente na pata de ratos (von Frey eletrônico), em cerca de 78,16% - (6,3±0,6) (Δ de limiar hipernociceptivo em relação ao grupo controle). Entretanto, este efeito foi inibido pela administração ipl dos antagonistas opióides seletivos, cyprodime (16,7±1,1- μ -opióide-80 μ g/pata) e norBNI (16,2±1,5- κ -opióide-5 μ g/pata), mas não pelo naltrindol (6,05±1,5- δ -opióide-1 μ g/pata). **DISCUSSÃO E CONCLUSÃO:** A administração ipl de anandamida reduz a hipernocicepção mecânica aguda induzida por PGE₂ de maneira dose-tempo-dependente. Além disso, os dados sugerem que o mecanismo envolvido neste efeito seja mediado pela liberação de opióides endógenos que agem em receptores μ -opióides e κ -opióides resultando em analgesia. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPESP

06.150

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO TADALAFIL (CIALIS®) EM CAMUNDONGOS- PAPEL DO ÓXIDO NÍTRICO(NO), GMPC E DOS CANAIS DE K⁺ ATP DEPENDENTES (KATP).

Rolim, D. E.¹; Lima Vale, M.¹; Cavalcante, I. F.¹; Ribeiro, R. A.¹; Souza, M. H. L. P.¹ - ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: Tadalafil (TDF) e sildenafil (SIL) são inibidores seletivo da fosfodiesterase 5. Recentemente demonstramos o efeito antinociceptivo do SIL no modelo de contorções abdominais (CAs) com mecanismo baseado na inibição da via NO/GMPc/KATP. Seguindo o mesmo raciocínio, no presente trabalho, procuramos demonstrar o efeito antinociceptivo do TDF no modelo de CAs induzido por Zymosan (ZYM) em camundongos e estudar o envolvimento do NO, GMPc e KATP neste evento. **Métodos:** Camundongos Swiss (25-30 g) receberam salina ou TDF (6-54mg/kg, v.o). Após 45min, ZYM (1mg/animal; i.p.) foi administrado e as CAs aferidas por 20min. L-NAME (inibidor não seletivo da NO sintase; 40mg/kg; s.c.), L-arginina (L-ARG, substrato da NO sintase, 200mg/kg, i.p.), glibenclamida (GLIB, bloqueador dos KATP, 1mg/kg; v.o.), diazóxido (DZ, abridor de KATP; 1mg/kg; s.c.) e ODQ (inibidor da guanilato ciclase, 0,3-3mg/kg) foram administradas previamente ao TDF (54mg/kg; v.o). **Resultados:** TDF inibiu significativamente ($p < 0.001$) as CAs induzidas por ZYM, com o efeito máximo na dose de 54 mg/kg (79,91% de inibição). L-NAME e ODQ reverteram significativamente esse efeito. O tratamento com L-ARG previamente ao L-NAME restaurou o efeito antinociceptivo do TDF. GLIB isolada, porém não em associação com DZ, reverteu a antinocicepção do TDF. **Discussões:** Sugerimos que o TDF possua atividade antinociceptiva, através ativação da via NO endógeno/GMPc/KATP. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.151

ENDOGENOUS OPIOIDS MEDIATE THE HYPOALGESIA INDUCED BY SELECTIVE INHIBITORS OF CYCLO-OXYGENASE 2 IN RAT PAWS TREATED WITH CARRAGEENAN

França, D. S.¹; Bakhle, Y. S.²; Francischi, J. N.³ - ¹UFMG - Farmacologia - ICB; ²Imperial College - Leukocyte Biology; ³UFMG - Farmacologia

Mechanical hyperalgesia induced in rat paws by carrageenan (250 µg) was modified by pre-treatment with three selective inhibitors of cyclo-oxygenase-2 (COX-2); celecoxib, rofecoxib and SC236. These inhibitors raised the nociceptive threshold above the normal, non-inflamed, level, inducing a state of hypoalgesia. Such hypoalgesia was observed in different strains of rat (Holtzman, Wistar and Sprague Dawley) and after different modes of administration of the COX-2 inhibitor (locally - in the paw - or systemically). A selective inhibitor of COX-1 (SC 560; 1- 10 mg.kg⁻¹) decreased hyperalgesia but did not induce hypoalgesia. Pre-treatment with naltrexone (3 mg.kg⁻¹), an opioid receptor antagonist, did not affect carrageenan-induced hyperalgesia but abolished the hypoalgesic effects of COX-2 inhibitors, without diminishing the anti-hyperalgesic effect of indomethacin. In rats made tolerant to the anti-nociceptive effects of morphine, all anti-nociceptive effects of SC236 were abolished but the anti-hyperalgesic effects of indomethacin or SC 560 were unaffected. We conclude that, in our model of inflammatory hyperalgesia, the anti-nociceptive effect of selective COX-2 inhibitors involved the participation of endogenous opioids. **Keywords:** cyclooxygenase-2, prostaglandins, selective COX-2 inhibitors, opioids, hyperalgesia **Supported by:** CNPq, CAPES, FAPEMIG

06.152

ENVOLVIMENTO DO FATOR C5a DO COMPLEMENTO NA HIPERNOCICEPÇÃO MECÂNICA EM PATA DE RATO

Ting, E.¹; Guerrero, A. T. G.¹; Taylor, S. M.²; Cunha, F. de Q.¹; Ferreira, S. H.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia; ²School of Biomedical Sciences - University of Queensland - Farmacology

INTRODUÇÃO: A literatura sugere o envolvimento da cascata do complemento em modelos de hiperalgesia inflamatória e também em respostas hiperalgênicas de origem imune. Entretanto não se conhece bem o mecanismo e o nível de participação do complemento nestas respostas. Assim, o objetivo deste estudo foi investigar a participação e mecanismos do C5a na hipernocicepção mecânica em rato. **MÉTODOS:** O método Randall-Selitto modificado por Ferreira foi utilizado para mensuração da hipernocicepção. O número de neutrófilos e a concentração de citocinas no tecido plantar foram determinados pelo ensaio de mieloperoxidase e de ELISA respectivamente. **RESULTADOS:** Verificou-se que o tratamento intraplantar com PMX 53 (antagonista de C5a) inibiu a hipernocicepção mecânica induzida pelo estímulo intraplantar com zimosan (100%) ou soro ativado por zimosan (89,6%) e também no modelo de imunização com CFA (71,7%). Concomitantemente, o número de neutrófilos foi também inibido pelo PMX 53 para zimosan (70%), soro ativado por zimosan (100%) e CFA (31%). Porém, os níveis de citocinas (TNF- α , CINC-1 e IL-1 β) não foram alterados. **DISCUSSÃO:** O C5a participa da hipernocicepção mecânica induzida por diferentes estímulos. Esse efeito deve estar envolvendo o recrutamento de neutrófilos, mas não a produção de citocinas pró-nociceptivas. O que nos leva a uma hipótese de que os neutrófilos estariam exercendo alguma atividade ou intermediando a hipernocicepção mecânica das citocinas. **Apoio Financeiro:** CNPq e FAPESP

06.153

MECHANICAL HYPERALGESIA INDUCED BY ENDOTHELIN-1 (ET-1) IN RATS IS MEDIATED VIA PHOSPHOLIPASE C, PROTEIN KINASE C AND MAP KINASES.

Motta, E. M.¹; Medeiros, R.¹; Calixto, J. B.¹; Rae, G. A.¹ - ¹UFSC - Farmacologia

Introduction: Injection of ET-1 into the hindpaw induces prolonged mechanical hyperalgesia via local ET_A and ET_B receptors (Motta E.M. et al., FESBE 2005). This study examines some possible signalling mechanisms underlying ET-1-induced mechanical hyperalgesia. **Methods:** After i.pl. ET-1 (30 pmol) or PBS hindpaw injection in male Wistar rats (~ 250 g), the responsiveness threshold to mechanical stimulation was assessed repeatedly using the dynamic plantar aesthesiometer test. Distinct groups received ipsilateral i.pl. injection of selective inhibitors of either PLC (U73122, 1-10 pmol), PKC (GF109203X, 1 nmol), PLA2 (PACOFC3, 1 nmol), p38 MAPK (SB203580, 30 nmol), ERK1/2 (PD98059, 30 nmol) or JNK (SP600125, 30 nmol), 15 min prior to ET-1. **Results:** ET-1 caused mechanical hyperalgesia which started 2 h after injection, peaked at 5 h (from PBS value of $29 \pm 0,5$ to $17 \pm 1,3$ g) and lasted until 8 h. Inhibitors of PLC, PKC, p38 MAPK, ERK1/2 and JNK caused long-lasting reductions of the mechanical hyperalgesia (inhibitions at 5 h of 100, 100, 33, 75 and 98%, respectively). The PLA2 inhibitor only reduced hyperalgesia at 4 h (by 58 %). Western blot analysis in samples of hindpaw skin showed that ET-1 also enhanced the expression of activated ERK1/2, JNK and p38 MAPKs. **Conclusion:** These functional and protein expression findings show that mechanical hyperalgesia caused by ET-1 in rats is mediated via PLC-, PKC-, MAPKs-dependent signalling pathways, whereas PLA2 plays a less expressive role. **Supported by:** CNPq, CAPES, FAPESC and PRONEX.

06.154

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA INOSINA E ADENOSINA NA NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR CITOCINAS E SUBSTÂNCIA P

Nascimento, F. P.¹; Ribas, C. M.²; Jacques, A. V.²; Lopez, S. M. F.²; Rodrigues, A. L. S.³; Santos, A. R. S.² -
¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - Ciências Fisiológicas; ³UFSC - Bioquímica

Introdução: A adenosina (ADO) e seu metabólito inosina (INO) são nucleosídeos endógenos que apresentam atividades antiinflamatória, imunoprotetora e neuroprotetora. Além disso, dados da literatura e de nosso grupo demonstram que a ADO também apresenta importante efeito antinociceptivo. Assim, o presente estudo analisa o possível efeito antinociceptivo da INO, administrada pelas vias intraperitoneal (i.p.), intratecal (i.t.) e intracerebroventricular (i.c.v.), na nocicepção induzida por ácido acético (AA), bem como o efeito antinociceptivo da INO e da ADO na nocicepção induzida por citocinas pró-inflamatórias interleucina-1beta (IL-1beta) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF-alfa) e substância P (SP) em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (25-35g n=6-12 por grupo) de ambos os sexos. A resposta nociceptiva foi analisada através do número de contorções abdominais induzidas pelo AA (0,6%,i.p.) e através do tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo os membros posteriores (patas, cauda e abdômen) (TLM) após a administração i.t. de IL-1beta, TNF-alfa e SP (0,1; 1,0 e 100 pmol/sítio, respectivamente). **Resultados:** A administração de INO pelas vias i.p. (0,1-100 mg/kg); i.t. (0,01-10) e i.c.v. (0,1-10) µg/sítio reduziu de forma significativa e dependente da dose as contorções abdominais induzidas pelo AA, com DI_{50} de 1,96 (0,6-5,9) mg/kg; 4,19 (3,5-5,0) e 0,26 (0,21-0,34) mg/sítio e inibições de 86±6; 72±5 e 56±6%, respectivamente. A INO (10 mg/kg, i.p.) e ADO (100 mg/kg, i.p.) reduziram de forma significativa o TLM induzido pelas injeções i.t. de IL-1beta, TNF-alfa e SP, com inibições de 53±5 e 48±14% para IL-1beta; 37±6 e 50±6% para TNF-alfa e 61±11 e 78±8% para a SP, respectivamente. **Discussão:** Estes resultados demonstram que a INO possui efeito antinociceptivo tanto administrada sistemicamente (i.p.) quanto centralmente (i.t. e i.c.v.). Além disso, os dados do presente estudo estendem resultados prévios do nosso laboratório e demonstraram que a INO e ADO inibem a nocicepção induzida pelas citocinas pró-inflamatórias e pela SP em camundongos. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, UFSC.

PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA ADENOSINÉRGICO NA ANTINOCICEPÇÃO CAUSADA PELO CLORETO DE ZINCO EM CAMUNDONGOS

Rosa, K. A.¹; Nascimento, F. P.²; Rodrigues, A. L. S.³; Pedrazza, E. L.⁴; Bonan, C. D.⁵; Santos, A. R. S.¹ - ¹UFSC - Ciências Fisiológicas; ²UFSC - Farmacologia; ³UFSC - Bioquímica; ⁴PUC - RS - Biologia Celular e Molecular; ⁵PUC - RS - Ciências Fisiológicas

Introdução: O Zinco (Zn^{2+}) é um metal pesado encontrado em grandes concentrações no sistema nervoso central em vesículas sinápticas de neurônios específicos. Recentemente, foi demonstrado pelo nosso grupo que o cloreto de zinco ($ZnCl_2$) apresenta importante ação antinociceptiva, em parte, por modular tanto o sistema glutamatérgico como a ação de citocinas pró-inflamatórias (IL-1b e TNF-a) em camundongos. O presente estudo analisa a possível participação do sistema adenosinérgico (receptores A_1 e A_{2A}) na atividade antinociceptiva do $ZnCl_2$ na nocicepção induzida pela formalina. **Métodos:** Foram utilizados camundongos suíços fêmeas (25-35 g, n=6-12 por grupo). A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permanece lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata direita posterior após administração intraplantar (i.pl.) de 20 ml de formalina 2,5% (formaldeído 0,92%). Para os ensaios das atividades ectonucleotidásicas, sinaptossomas de medula espinhal foram preparados e a atividade de hidrólise dos nucleotídeos extracelulares ATP, ADP e AMP foi realizada através da medida do fosfato inorgânico liberado. **Resultados:** A administração de $ZnCl_2$ pela via i.p. (0,01-10 mg/kg) reduziu de forma significativa e dependente da dose o TLM induzido pela formalina, tanto na primeira fase (dor neurogênica) quanto da segunda fase (dor inflamatória), com DI_{50} de 4,87 (4,71-5,04) e 0,73 (0,69-0,78) mg/kg e inibição de 34±6 e 100±0%, respectivamente. A antinocicepção causada pelo $ZnCl_2$ (10 mg/kg, i.p.) foi significativamente revertida pelo pré-tratamento dos animais com cafeína (3 mg/kg, i.p. antagonista não-seletivo de receptores adenosinérgicos) apenas na nocicepção inflamatória induzida pela formalina. Contudo, o pré-tratamento dos animais com DPCPX (5 mg/kg, i.p., antagonista seletivo de receptor A_1), reverteu significativamente ambas as fases de nocicepção induzida pela formalina. Por outro lado, o pré-tratamento dos animais com ZM241385 (3 mg/kg, i.p., antagonista seletivo de receptor A_{2A}), não foi capaz de reverter de forma significativa ambas as fases da nocicepção induzida pela formalina. As atividades ectonucleotidásicas foram determinadas 30 minutos após administração de $ZnCl_2$ (10 mg/kg, i.p.), a fim de avaliar a produção extracelular de adenosina. Não foram observadas mudanças significativas na hidrólise de ATP, ADP e AMP em sinaptossomas de medula espinhal dos animais tratados com $ZnCl_2$. **Discussão:** Estes resultados estendem dados anteriores e sugerem que atividade antinociceptiva do $ZnCl_2$ envolve, pelo menos em parte, a ativação do sistema adenosinérgico (via receptores A_1 , mas não o receptor do tipo A_{2A}), mas não são observadas alterações significativas na produção extracelular de adenosina. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq, UFSC

06.156

INFLUENCE OF INFRAORBITAL NERVE LIGATION ON ENDOTHELIN RECEPTOR EXPRESSION IN RAT TRIGEMINAL GANGLION

Chichorro, J. G.¹; Zamprônio, A. R.²; Cabrini, D. A.²; Franco, C. R. C.³; Rae, G. A.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UFPR - Farmacologia; ³UFPR - Biologia Celular

Introduction: Infraorbital nerve (ION) constriction injury inflicts marked facial neuropathic-like ipsilateral hypernociception to cold and heat stimuli in rats, which peaks on days 4-6 after surgery and is reduced by endothelin ET_A and/or ET_B receptor blockade. This study assesses the localization of endothelin ET_A and ET_B receptors in the rat trigeminal ganglia and the influence of ION constriction on endothelin receptor expression. **Methods:** Two loose silk 4-0 ligatures were tied around the right ION of anesthetized male Wistar rats (180-200 g) to induce constriction injury. On day 4 after surgery, the trigeminal ganglia of rats, ipsilateral to the constricted ION, were removed and processed for immunohistochemistry or western blot essays, as previously described (Pomonis et al., 2001, *J. Neurosci.*, 21: 999; Breuiller-Fouché et al., 2005, *Endocrinology*, 146: 4878). **Results:** Confocal fluorescence microscopy revealed the co-localization of ET_A with IB4- and NF200-immunoreactivity, but not with GFAP. ET_B immunoreactivity was found in IB4- and GFAP-immunoreactive cells, but not in NF200- immunoreactive nerve fibers. ION constriction increased trigeminal ganglion ET_A receptor expression, but that of ET_B receptors was decreased, compared to sham-operated rats. **Discussion:** ET_A receptors, present in C- and A-fibers, and ET_B receptors, present in C-fibers and glial cells of the trigeminal ganglia, contribute to thermal hypernociception and have their expression modulated by ION constriction. **Supported by:** CNPq, PRONEX, FAPESC

06.157

EVIDÊNCIAS DA PARTICIPAÇÃO DO CÓRTEX RETROESPLÊNIO NA ANTINOCICEPÇÃO INDUZIDA POR ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA EM RATOS.

Reis, G. M.¹; Diasjr, Q. M.¹; Petronilho, A.¹; Prado, W. A.¹ - ¹FMRP - USP - Farmacologia

O envolvimento do córtex cerebral na controle da nocicepção tem sido alvo de estudos já que esta pode ser alterada por estimulação elétrica (E.E) do córtex. Porém muito pouco é sabido sobre os mecanismos neurais subjacente à modulação cortical da dor. Este trabalho investigou se a E.E do córtex retroesplênio (C.R) promove antinocicepção em modelo de dor fásica. Ratos Wistar machos(160g) receberam implante crônico de eletrodos unipolares dirigidos ao C.R. e foram submetidos ao teste de retirada de cauda (R.C) e rota-rod. A estimulação do C.R. produziu aumento imediato e corrente – dependente da latência de R.C, sendo 15 μ A a menor corrente capaz de produzir latências que se mantiveram acima de 5,5 segundos nos cinco minutos posteriores à estimulação e significativamente diferente do grupo falso estimulado (controle) por praticamente todo período de experimentação. As demais correntes testadas (20, 25, 30, 40 e 50 μ A) produziram efeitos de perfil similar ao obtido com 15 μ A. As curvas corrente x efeito obtidas foram significativamente diferentes quanto ao tratamento ($p < 0,0001$) e tempo ($p < 0,0001$) e demonstraram interação significativa tratamento x tempo ($p < 0,0001$). No teste de rota-rod, os grupos controle (antes da estimulação) e efetivamente estimulados (até 30 μ A) não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$). Estes resultados indicam que o aumento da latência de R.C observado após a E.E do C.R provavelmente decorre da inibição da nocicepção e não de déficit motor. **Apoio Financeiro:** Capes

06.158

CARACTERIZAÇÃO DA RESPOSTA NOCICEPTIVA INDUZIDA POR PRÓTONS E GLUTAMATO EM CAMUNDONGOS

Coelho, I. S.¹; Meotti, F. C.²; Santos, A. R. S.¹ - ¹UFSC - Ciências Fisiológicas; ²UFSM - Química

Introdução: Trabalhos prévios demonstram que prótons podem modular a atividade de receptores e canais iônicos em nociceptores, ativando diretamente receptores vanilóides do tipo 1 (TRPV1) e canais iônicos sensíveis a ácidos (ASICs). Além disso, trabalhos do nosso grupo mostraram uma ação sinérgica entre a resposta nociceptiva induzida por prótons e pelo neurotransmissor glutamato. Neste contexto, este trabalho investiga os mecanismos pelos quais os prótons e o glutamato, induzem nocicepção em camundongos.

Métodos: Foram utilizados camundongos Swiss fêmeas (25-35 g, n = 6-8 por grupo). A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada com solução ácida pH 1,98 (SA), glutamato 20 mmol/pata pH 7,0 (GLUt) e glutamato 3 mmol/pata pH 1,98 (GLUa) durante 15 min. **Resultados:** A co-administração de amilorida (3 – 1000 nmol, bloqueador de ASICs) foi capaz de reduzir o TLM no GLUa e SA em 66±6% e 66±8%, com DI₅₀ de 18,5 (13,9–24,5) e 25,64 (23,6–28,51), respectivamente, mas não alterou a resposta do GLUt. De forma similar, a co-administração de capsazepina (5 – 12500 pmol, antagonista de receptor VR1), reduziu o TLM induzido pela SA e GLUa com IMáx de 64±5% e 73±6% e DI₅₀ de 63,8 (42,0 – 97,01) e 14,8 (8,0 – 27,40) respectivamente, não exercendo nenhum efeito sobre o TLM induzido pelo GLUt. O tratamento com capsaicina neonatal (50 mg Kg⁻¹), o qual degenera grande parte das fibras sensoriais do tipo C, reduziu significativamente o TLM nos grupos que receberam SA e GLUa, porém não alterou o TLM do grupo que recebeu GLUt. A co-administração i.pl. com indometacina (inibidor da síntese de prostaglandinas) reduziu o TLM induzido pela SA e GLUa em 75±10% e 71±11%, respectivamente e não aquele induzido pelo GLUt. **Discussão:** Estes resultados, somados a resultados prévios de nosso laboratório demonstram que a resposta nociceptiva induzida pela SA e GLUa envolve a participação de ASICs, de receptores vanilóides do subtipo TRPV1, das fibras sensoriais do tipo C, da liberação de prostaglandinas e ativação de receptores glutamatérgicos do subtipo NMDA; embora, a nocicepção induzida pelo GLUt parece envolver exclusivamente a ativação de receptores glutamatérgicos. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESC, UFSC.

06.159

INTERAÇÃO ENTRE GLUTAMATO E PRÓTONS NA RESPOSTA NOCICEPTIVA EM CAMUNDONGOS

Coelho, I. S.¹; Meotti, F. C.²; Santos, A. R. S.³ - ¹UFSC - Ciências Fisiológicas; ²UFMSM - Química; ³UFSC - Ciências Fisiológicas

Introdução: O glutamato possui importante função na transmissão nociceptiva, contudo, este aminoácido (aa) possui uma característica de dissociação, a qual torna o meio ácido. Neste sentido, a nocicepção induzida pelo glutamato pode ter origem da ação deste aa ao seu receptor, mas também da ação de ácidos sobre a abertura de canais iônicos sensíveis a alterações de pH (ASICs). Assim, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a nocicepção induzida pela administração intraplantar (i.pl.) de uma solução de glutamato desprovida do componente ácido (glutamato tamponado em pH 7,0 GLUt) e outra não tamponada (GLUa), bem como de uma solução ácida (SA). **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (25-35 g, n=6-8 por grupo) fêmeas. As SAs foram preparadas com ácido acético 2% (AA) e os diferentes valores de pH ajustados com NaOH (7,0; 6,0; 4,0; 1,98 e 1,4). Foram utilizadas diferentes concentrações de glutamato não tamponado GLUa (0,3; 1; 3; 10; 20; 30 µmol/pata) com seus respectivos valores de pH (2,24; 1,98; 1,72; 1,34; 1,14; 1,0); e a solução de glutamato tamponado em pH 7,0 GLUt (3; 10; 20; 30 µmol/pata). A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada com 20 µl de SA, GLUa ou GLUt durante 15 min. Animais controle receberam 20 µl de solução salina 0,9%.

Resultados: A administração de GLUt e GLUa induziu nocicepção com DE₅₀ de 15,1 (11,5-19,9) e 2,5 (1,5-4,2) µmol/pata, respectivamente. Para a SA, o pH que induz 50% de resposta foi 4,25 (3,34-5,41). Para elucidar a participação do sistema glutamatérgico, a SA (pH 1,98), GLUt (20 µmol/pata) ou GLUa (3 µmol/pata) foram co-administrados com MK-801 (0,5 – 50 nmol/pata). O MK-801 diminuiu o TLM induzido pela SA, GLUt e GLUa, com DI₅₀ de 7,72 (4,39 – 13,57); 6,66 (3,34 – 13,29) e 18,70 (15,06 – 3,22) nmol/pata e inibição de 89±8, 62±6 e 68±11%, respectivamente, para a dose de 50 nmol/para. **Discussão:** Os resultados do presente estudo mostram uma correlação significativa (P<0,01) entre a concentração de glutamato, o pH e o TLM, mostrando um sinergismo entre a ação do glutamato e ação do ácido sobre a resposta nociceptiva. Reforçando a existência de uma relação entre a resposta glutamatérgica e ácida, o MK-801 inibiu de forma mais potente o TLM induzido pela SA e pelo GLUt do que pelo GLUa. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPESC, UFSC.

06.160

PARTICIPAÇÃO DO CITOESQUELETO NA AÇÃO HIPOALGÉSICA DOS INIBIDORES SELETIVOS DE CICLOOXIGENASE 2 (ICOX 2)

Lima, P. P.¹; França, D. S.²; Francischi, J. N.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²UFMG - ICB

Introdução: mecanismos endógenos de nocicepção e anti-nocicepção envolvem alterações no citoesqueleto celular, tais como modificação de membranas, trânsito de vesículas, entre outros. Trabalhos prévios em nosso laboratório mostraram que ICOX 2 são capazes de induzir aumento do limiar de nocicepção, ou hipoalgesia, na pata inflamada de ratos (França et al, 2006). O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito produzido pela administração de inibidores do citoesqueleto na hipoalgesia induzida pelo celecoxibe, um ICOX 2. **Métodos:** Para isso, inibidores de microtúbulos (taxol, nocodazol e colchicina), ou de microfilamentos (latrunculina B) ou de filamentos intermediários (acrilamida) foram administrados (0,1 – 141 micromoles/ pata) ½ h antes da administração ou de celecoxib (12 mg/kg) ou salina. Em seguida, todos os animais foram injetados na mesma pata com dose padrão de carragenina (CG; 250 micrograma/pata). A pata contralateral recebeu o mesmo volume de salina fisiológica. O desenvolvimento de hiperalgesia pelo método de Randall-Sellito modificado foi avaliado antes e de hora em hora durante 6 h após a administração da CG. **Resultados e Discussão:** Os inibidores de microtúbulos e de actina reverteram de maneira dose-dependente a hipoalgesia induzida pelo celecoxibe, enquanto o inibidor dos filamentos intermediários não. Os resultados sugerem que modificações na polimerização de microtúbulos e/ou de microfilamentos de actina estão envolvidas no efeito hipoalgésico do celecoxibe. França et al (2006) – Neuropharm. *In press* **Apoio Financeiro:** CNPQ, FAPEMIG

06.161

PRONOCICEPTIVE AND ANTINOCICEPTIVE INFLUENCE OF THE PARATRIGEMINAL NUCLEUS DEPENDS ON THE NOXIOUS STIMULUS NATURE

Koepp, J.¹; Julian Lindsey, C.²; Rae, G. A.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UNIFESP - EPM - Biofísica

Introduction: Anatomical and immunohistochemical studies have suggested the paratrigeminal nucleus (Pa5) may play a role in nociceptive processing, in addition to its recognized participation in autonomic function control. The current study investigated the influence of unilateral Pa5 lesion on nocifensive response of conscious rats to thermal, mechanical and chemical stimulation applied to the hindpaw or the orofacial region.

Material and Methods: Lesion of the left Pa5 with ibotenic acid was performed in anesthetized adult Wistar rats. Three days later, conscious rats were submitted to noxious thermal (Hargreaves test), mechanical (Electronic von Frey, Randall-Sellito or von Frey filaments) or chemical (formalin 2,5 or 1%; 50 µl) stimuli applied to the hindpaw or orofacial region. Although unilateral Pa5 lesion did not change the responsiveness to thermal stimuli applied to both regions, it reduced the nociceptive threshold to mechanical stimulation of the contralateral (but not ipsilateral) paw in electronic von Frey and Randall-Sellito by 45 and 20%, respectively, when compared to sham-operated animals. Moreover, the mean mechanical threshold for withdrawal of contralateral or ipsilateral orofacial region in Pa5 lesioned rats was reduced in 85%. On the other hand, unilateral Pa5 lesion diminished the nocifensive responsiveness to formalin injected into the left, but not right, hindpaw, but enhanced it when formalin was injected into the upper lip. **Conclusion:** These results reveal the Pa5 as a new member of the supraspinal pain control system, that plays a differential modulatory role in the central processing of mechanical and chemical nociceptive information. The capacity of this nucleus to modulate nocifensive responses seems to be dependent on the tonic (formalin) versus phasic (mechanical) characteristics of the noxious stimulus and/or the central ascending pathways involved in decoding nociceptive signals in the brain. **Supported by:** CNPq, FAPESP

06.162

NEUROKININA A INDUZ HIPERALGESIA MECÂNICA NA PATA DE RATOS VIA ATIVAÇÃO DE RECEPTORES NK₁ E NK₂.

Santos, J. M. M.¹; Francischi, J. N.¹ - ¹UFMG - Farmacologia

Introdução: Os neuropeptídeos substância P (SP) e neurocinina A (NK-A) são produzidos e liberados por terminais nervosos de fibras C e A δ , que estão relacionados à transmissão da sensação dolorosa. O objetivo do presente trabalho foi verificar se a administração exógena desses neuropeptídeos na pata de ratos induziria redução do limiar nociceptivo dos animais. **Métodos:** SP (0,3 a 30 nmoles), NK-A (0,2 a 0,8 nmoles) ou salina fisiológica estéril (controle; C) foram administrados por via intraplantar em ratos (0,1 ml/pata). Dois grupos de animais receberam antagonistas específicos de receptores NK₁ (SR 140333- 1 mg/Kg) e NK₂ (SR 48968- 2 mg/Kg) por via intramuscular (0,1ml/100 g) 15 min antes dos agonistas. As medidas de hiperalgesia mecânica (g) foram obtidas nos tempos de 0, ¼, ½, 1, 2, 3, 4 e 6 h após as injeções intraplantares dos neuropeptídeos (n=4-6; one-way ANOVA, P<0,05). **Resultados:** Apenas NK-A induziu hiperalgesia na pata de ratos (NK-A: -45 \pm 7; C: 5,7 \pm 3 // SP: 7,5 \pm 2; C: 10 \pm 3, g), que foi abolida pelo tratamento prévio dos animais com o composto SR 140333 (SR140: 10 \pm 4; C: -52 \pm 7, g), e reduzida parcialmente com o SR 48968 (SR48: -20 \pm 3; C: -43 \pm 4, g). **Discussão:** Nossos dados sugerem que tanto receptores NK₁ como NK₂ estão envolvidos na resposta hiperalgésica induzida pela neurocinina A na pata de ratos. Entretanto, se a ativação desses receptores ocorre periférica ou centralmente, não foi avaliado no presente estudo. **Apoio Financeiro:** CNPq, CAPES, FAPEMIG e FUNORTE

06.163

PARTICIPAÇÃO DOS CANAIS DE POTÁSSIO NA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DA AGMATINA EM CAMUNDONGOS

Maffi, L. C.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: Recentemente demonstrou-se que a agmatina (AGM) apresenta significativo efeito antinociceptivo em diversos modelos de nocicepção em camundongos. Neste sentido, nosso grupo de pesquisa demonstrou anteriormente que sua atividade antinociceptiva depende, em parte, da participação dos sistemas glutamatérgico, opióide, α_2 -adrenérgico, serotoninérgico, da via da L-arginina-óxido nítrico, da proteína $G_{i/o}$ sensível à toxina pertussis e dos canais de cálcio. Assim, este trabalho avaliou a possível influência dos canais de potássio na atividade antinociceptiva da agmatina no modelo das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (AA) em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (25-40g N=8-12 por grupo) de ambos os sexos. O possível envolvimento dos canais de potássio na antinocicepção causada pela agmatina foi analisado em relação às contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6%, i.p.). **Resultados:** O tratamento dos animais com AGM (1-30 mg/kg, i.p., 30 min antes) foi capaz de reduzir de maneira significativa e dependente da dose a nocicepção causada pelo AA, com DI_{50} de 5,6 (3,9-8,0) mg/kg e inibição de $83 \pm 4\%$. A antinocicepção causada pela agmatina (10 mg/kg, i.p., 0,5 h antes) no modelo do ácido acético, foi significativamente revertida pelo pré-tratamento dos animais via intratecal (i.t.), 10 min antes, com glibenclamida (80 mg/sítio, bloqueador de canal de potássio ATP-dependente), tetraetilamônio (100 ng/sítio, bloqueador não seletivo de canal de potássio dependente de voltagem) ou apamina (50 ng/sítio, bloqueador de canal de potássio de baixa condutância sensível a Ca^{2+}). No entanto, o efeito antinociceptivo da AGM, no teste do AA, não foi afetado pelo pré-tratamento via i.t., 10 min antes, com caribdotoxina (250 pg/sítio, bloqueador de canal de potássio de alta condutância sensível a Ca^{2+}). **Discussão:** Estes resultados estendem dados anteriores e demonstram que a atividade antinociceptiva da AGM depende, pelo menos em parte, da ativação de diferentes canais de potássio, entre eles os modulados por voltagem e pelo ATP e os sensíveis a baixa condutância de Ca^{2+} . **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq, UFSC.

06.164

ENVOLVIMENTO DO SISTEMA GLUTAMATÉRGICO NA ANTINOCICEPÇÃO INDUZIDA PELA LAMOTRIGINA EM CAMUNDONGOS

Maffi, L. C.¹; Gadotti, V. M.¹; Rodrigues, A. L. S.²; Andreatini, R.³; Santos, A. R. S.¹ - ¹UFSC - Ciências Fisiológicas; ²UFSC - Bioquímica; ³UFPR - Farmacologia

Introdução: A lamotrigina (LM) é um novo fármaco utilizado como anticonvulsivante, cuja o mecanismos de ação é por estabilizar a membrana neuronal pré-sináptica pelo bloqueio de canais de sódio dependente de voltagem, deste modo prevenindo a liberação excessiva de neurotransmissores excitatórios, principalmente glutamato. Além disso, dados da literatura demonstram que a LM produz analgesia em modelos de hiperalgesia aguda e crônica em ratos. Assim, o presente estudo analisa o possível envolvimento do sistema glutamatérgico na atividade antinociceptiva da LM em camundongos. **Métodos:** Foram utilizados camundongos suíços fêmeas (25-35 g, n=6-12 por grupo). A resposta nociceptiva foi caracterizada pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLMp) a pata direita posterior após administração intraplantar (i.pl.) de 20 ml de glutamato (10mmol/pata) e através do tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo os membros posteriores (patas, cauda e abdômen) (TLMmp) após a administração intratecal (i.t.) de 5 ml de glutamato (175nmol), NMDA (450pmol), AMPA (135pmol), cainato (110pmol), trans-ACPD (50 nmol) e substância P (SP) (100pmol). Além disso, foi utilizado o teste de campo aberto para avaliar o efeito da LM, em diferentes doses, sobre a atividade locomotora. **Resultados:** A administração de LM pela via intraperitoneal (i.p.) (0,1-10 mg/kg) reduziu de forma significativa e dependente da dose o TLMp induzido pelo glutamato, com DI_{50} de 5,2 (4,8-5,7) mg/kg e inibição de 74±8%. A LM (10 mg/kg, i.p.) foi capaz de reduzir o TLMmp induzido por glutamato, NMDA, AMPA e trans-ACPD, com inibições de 61±7, 80±5, 64±6 e 38±9%, respectivamente. No entanto, a LN não inibiu a resposta nociceptiva induzida por cainato e SP. Além disso, a LN nas doses que foram efetivas em reduzir a nocicepção, não alterou a ambulação dos animais no campo aberto em relação ao grupo controle. **Discussão:** Estes resultados demonstram que a LM apresenta significativo efeito antinociceptivo em camundongos. O mecanismo de ação não esta completamente esclarecido, mas parece atuar, pelo menos em parte, através da modulação do sistema glutamatérgico (principalmente receptores ionotrópicos NMDA e AMPA bem como dos receptores metabotrópicos). **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq, UFSC.

06.165

PHYSIOLOGICAL ROLE OF MODULATORY NOCICEPTIVE ASCENDENT PATHWAY

Fischer, L.¹; Tambeli, C. H.¹ - ¹FOP - UNICAMP - Ciências Fisiológicas

Ascendent nociceptive control is a neural pathway that ascends from spinal cord to Nucleus Accumbens (n.a.) that when activated induces heterosegmental antinociception. This pathway can be activated by blockade of glutamate receptors in the spinal cord and blockade of opioid receptors in n.a. The aim of this study was to verify if this pathway is activated during the defensive behavior of dorsal immobility. Male Wistar rats (230-300g) received subarachnoid lumbar injection of LY 376385 (LY, 170 and 680 μ g/ 10 μ l) an mGluR₁ antagonist or its vehicle. Saline or the mu opioid receptor antagonist CTOP (0.5 μ g/ 0.5 μ l) was microinjected in n.a. through a stainless steel guide cannulae stereotactically positioned (from bregma: 1.3mm rostral, 7.2mm ventral and \pm 1.8mm lateral). Injection sites were verified by histological examination. Dorsal immobility response was assessed 5, 15, 30, 45 and 60 minutes after subarachnoid lumbar injection, locomotion was assessed in a open field apparatus. Data were analyzed by ANOVA and Tukey post-hoc test ($p < 0.05$). Subarachnoid injection of LY (680 μ g) significantly increased dorsal immobility response in naïve (50.8 \pm 6.5, n=7) and stereotaxically implanted animals that received saline in n.a. (37,3 \pm 5.5, n=6) when compared with its vehicle (21.9 \pm 1.7, n= 5 and 18,5 \pm 2.6, n=5, respectively). Injection of CTOP in n.a. blocked LY-induced increase in dorsal immobility response (13,4 \pm 2.0, n=4) while had no effect by itself (18,6 \pm 3.3, n=5). Locomotion was not affected by any of the treatments. These findings suggest that the ascendent nociceptive control is activated during defensive behaviors.

06.166

ANÁLISE DO MECANISMO DE AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DO DERIVADO SEMI-SINTÉTICO DO TRITERPENO AMIRINA: OCTANOATO DE AMIRINA.

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

Introdução: Recentemente foi demonstrado que o triterpeno alfa e beta-amirina, bem como seus derivados semi-sintéticos, reduzem as contorções abdominais induzidas pela injeção i.p. de ácido acético (AA, 0,6%). Dentre estes derivados o Octanoato de Amirina (OA) foi o que demonstrou maior potência. Assim, o presente estudo analisa o possível efeito antinociceptivo do OA em modelos de nocicepção química e seus possíveis mecanismos de ação. **Métodos:** Foram utilizados camundongos Swiss (30-40 g, n=6-8/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 de glutamato (20 mmol/pata, pH 7,0) durante 15 min. Em outra série de experimentos, a nocicepção foi induzida pela injeção intratecal (i.t.) de glutamato (175 nmol/sítio, 3 min), N-metil-D-aspartato (NMDA, 450 pmol/sítio, 5 min), cainato (110 pmol/sítio, 4 min), AMPA (135 pmol/sítio, 1 min), trans-ACPD (50 nmol/sítio, 15 min), substância P ou capsaicina (0,1 nmol/sítio, 6 min), sendo avaliado o TLM dos membros posteriores (patas, cauda e abdômen). O envolvimento do sistema opióide foi investigado através do pré-tratamento dos animais com naloxona (1 mg/kg, i.p.) e avaliado no teste de contorções abdominais induzidas pelo AA. **Resultados:** O pré-tratamento dos animais (30 min) com OA (0,001 - 10 mg/kg, i.p.) reduziu o TLM induzido pelo glutamato com DI₅₀ de 0,04 (0,03-0,08) mg/kg e inibição máxima de 69±6%. Além disso, o OA também inibiu significativamente o TLM induzido pela injeção i.t. de glutamato (36±11%), Substância P (67±10%) e capsaicina (68±10%). Porém, não inibiu a resposta nociceptiva induzida pelos agonistas seletivos de receptores glutamatérgicos. O pré-tratamento com naloxona preveniu a antinocicepção induzida pela morfina (5 mg/kg, s.c.), porém não foi capaz de reverter o efeito antinociceptivo do OA (0,1 mg/kg, i.p.) nas contorções abdominais induzidas pelo AA. **Discussão:** Os resultados estendem dados anteriores e demonstram que o OA possui atividade antinociceptiva em diferentes modelos de nocicepção química, incluindo a injeção i.pl. de glutamato e i.t. de glutamato, capsaicina e substância P. Porém, seu mecanismo de ação não está diretamente relacionado a uma ação sobre o sistema opióide. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPESC, CAPES, UFSC.

06.167

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTIINFLAMATÓRIA DE DERIVADOS SINTÉTICOS (AAL-195 e AAL-403) INIBIDORES DE FOSFODIESTERASE-4 (PDE-4)

Cupertino-Silva, Y. K.¹; Dias, T. L. M. F.¹; Rocha, I. R. C.¹; Silva, D. J. C.¹; Nunes, M. P.²; Lugnier, C.³; Schmitt, M.³; Bourguignon, J. J.³; Araujo Junior, J. X.⁴; Alexandre-Moreira, M. S.¹ - ¹UFAL - Farmacologia e Imunidade; ²FIOCRUZ - Imunologia; ³Faculté de Pharmacie - Université Louis Pasteur, Strasbourg, França; ⁴UFAL - Escola de Enfermagem e Farmácia

Introdução: Novos protótipos de fármacos antiinflamatórios foram planejados a partir da zardaverina e do rolipram. Dentre os análogos sintetizados, as novas piridazinonas AAL-195 e AAL-403, mostraram-se potentes e seletivos inibidores da PDE-4 *in vitro* (CI₅₀ = 2 µM e 0,9 nM, respectivamente) através de ensaios de binding e confirmados em modelagem molecular (1). **Objetivos:** Avaliar a atividade antinociceptiva e antiinflamatória *in vivo* das substâncias sintetizadas, utilizando modelos clássicos de nocicepção. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados modelos de nocicepção aguda (ensaio de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,1 M e ensaio de formalina 2,5 %) em camundongos Swiss (25-30g). A substância AAL-195 (300, 100, 30, 1 e 0,1 µMol/Kg) produziu uma significativa inibição (68,2 %, 61,2 %, 20,6 %, 9,6 % e 0 % respectivamente) nas contorções abdominais (DI₅₀= 69,66 µMol/Kg, 2,71 - 87,86, i.p.), bem como a

substância AAL-403 (300, 100, 30 e 1 e 0,1 $\mu\text{Mol/Kg}$), inibindo 49 %, 85,9 %, 49 %, 46 % e 0 %, respectivamente ($\text{DI}_{50} = 0,23 \mu\text{Mol/Kg}$, -23,81 - 61,71). Foi utilizado um padrão para comparação de potência, o Rolipram ($\text{DI}_{50} = 0,4 \mu\text{Mol/Kg}$), que inibiu significativamente a resposta nociceptiva no modelo de contorção. A substância AAL-403 também produziu significante inibição ao estímulo no ensaio de formalina tanto na fase neurogênica (42,8 % de inibição), quanto na fase inflamatória (40 % de inibição). **Conclusão:** Os resultados mostram que estes análogos podem ser apontados como protótipos de fármacos analgésicos e/ou antiinflamatório inibidores de PDE-4. (1) [Krier M, Araujo-Junior JX, Schmitt M et al., 2005. J Med Chem. 2;48\(11\):3816-22.](#) **Apoio Financeiro:** FAPEAL, CNPq, CAPES.

06.168

INVOLVEMENT OF NITRIC OXIDE IN phospholipase A₂-INDUCED ACUTE PANCREATITIS

Camargo, E.¹; Ferreira, T.¹; Landucci, E. C. T.¹; Antunes, E.¹ - ¹UNICAMP - Farmacologia

Objectives: Phospholipases A₂ (PLA₂s) induce acute pancreatitis when injected into the pancreaticobiliary duct of rats (Camargo et al., 2005). We have investigated the effect of nitric oxide inhibition on PLA₂-induced acute pancreatitis. **Methods:** Acute pancreatitis was induced by the injection of PLA₂ from *Naja mocambique mocambique* venom (PLA₂-*Nmm*; 300 µg/kg) into the common bile duct of male Wistar rats (220-260g, n=5-8). Treatment with L-NAME (non selective inhibitor of NO synthesis, 20 mg/kg) and aminoguanidine (inducible NO synthase inhibitor; 50 mg/kg) were performed immediately before PLA₂ injection (i.v.). Four h later, the pancreatic plasma protein extravasation (PPE), pancreatic and lung myeloperoxidase (MPO) and serum amylase, tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-10 (IL-10) were measured. **Results:** The PLA₂-*Nmm* induced a marked increase in PPE (75%), pancreatic MPO (231%), lung MPO (73%), serum amylase (155%) and serum TNF-α (260%). The IL-10 levels were not affected by PLA₂-*Nmm*-duct injection. The treatment with L-NAME reduced significantly the PPE (39%), but rather caused an increase in the pancreatic MPO (95%), whereas the lung MPO and serum amylase were not significantly changed. The serum levels of TNF-α were significantly decreased by L-NAME treatment (76%), whereas serum IL-10 levels were significantly increased (230%). Aminoguanidine did not cause any change in all parameters measured. **Conclusions:** We suggest that endothelial NO synthase-derived NO is involved in the plasma extravasation and neutrophil influx to the pancreatic tissue and the cytokine production in PLA₂-induced pancreatitis. Besides, NO does not seem to play a role in the remote lung neutrophil influx during PLA₂-induced pancreatitis. **Reference:** Camargo et al., *Toxicol*, 2005, 46, 921-6. **Supported by:** FAPESP

06.169

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA da *Polygala paniculata* L. E DO COMPOSTO ISOLADO RUTINA

Lapa, F. R.¹; Gadotti, V. M.²; Pizzolatti, M. G.³; Marques, M. C. A.¹; Santos, A. R. S.² - ¹UFPR - Farmacologia; ²UFSC - Ciências Fisiológicas; ³UFSC - Química

Introdução: A *P. paniculata* L. (mimosa, bromil e vassourinha branca), é utilizada popularmente para asma, artrite, dor de estômago e outros (Herb. Med. 3.ed p.241,1996). Este estudo investigou as propriedades antinociceptivas do extrato bruto hidroalcoólico da *P. paniculata* L. (EHPP) e do composto isolado rutina.

Métodos: Após 1 h (v.o.) ou 30 min (i.p) dos tratamentos com EHPP ou rutina foi avaliada a nocicepção em camundongos Swiss (n = 8-12) pelo tempo que o animal permaneceu lambendo e/ou mordendo (TLM) a pata injetada via intraplantar (i.pl.) com glutamato (GLU, 10 µmol) ou pelo TLM dos membros inferiores, após administração intratecal (i.t.) GLU (175 nmol), NMDA (450 pmol), trans-ACPD (50 nmol), IL-1 β (1pg) e TNF α (0,1pg). **Resultados:** O EHPP (0,001-0,1 mg/kg, v.o.) e a rutina (1,0-100 mg/kg, i.p) reduziram o TLM, induzido pelo GLU (i.pl), com DI 50 de 8,4 (7,7-9,2) µg/kg e 11,0 (7,8-15,4) mg/kg, inibição máxima (IM) de 72 ±3 e 82 ±7%, respectivamente. Tanto o EHPP (1,0 mg/kg, v.o.) quanto a rutina (30 mg/kg, i.p.) inibiram a nocicepção provocada i.t. pelo GLU, NMDA, IL-1β e TNFα, com IM de 48 ±9, 81 ±5, 59 ±14 e 46 ±12% para o EHPP e IM de 45 ±13, 39 ±15, 87± 3 e 73 ±5% para a rutina, respectivamente. **Discussão:** Os resultados obtidos sugerem que o EHPP e a rutina apresentam efeito antinociceptivo, em parte, por atuar inibindo o sistema glutamatérgico (via receptores NMDA) e a ação de citocinas pró-inflamatórias. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq, FAPESC, UFSC, UFPR.

06.170

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DA ADENOSINA, EM CAMUNDONGOS

Lapa, F. R.¹; Santos, A. R. S.² - ¹UFPR - Farmacologia; ²UFSC - Ciências Fisiológicas

Introdução: Evidências indicam que a adenosina (AD), exerce influência na regulação do processo inflamatório (Haskó, G., Trends immunol. v.25, n.1. p.33, 2004). Este estudo avaliou a atividade antiinflamatória da AD na pleurisia induzida pela carragenina (CAR) em camundongos e a participação dos receptores adenosinérgicos A₁ e A_{2A} neste efeito. **Métodos:** Camundongos (18-23g, N=8-12), foram pré-tratados com AD (1-100 mg/kg, i.p.) 30 min antes da injeção intrapleural de CAR (1%). Outros grupos de animais foram pré-tratados com ZM241385 (1,5 mg/kg, i.p., antagonista A_{2a}), DCPX (2,5 mg/kg, i.p., antagonista A₁) e cafeína (1,5mg/kg, i.p., antagonista não-seletivo) 20 min antes da administração de AD (100 mg/kg, i.p.) e após foram submetidos ao modelo de pleurisia. **Resultados:** A AD inibiu a inflamação induzida pela CAR, reduzindo a contagem global de leucócitos com DI₅₀ de 12,2 (6,6-22,8) mg/kg e IM 75±3%. A contagem diferencial de neutrófilos, monócitos e a exsudação pleural também foram reduzidos com ID₅₀ de 3,9(2,7-5,7) e ~ 100 mg/kg para contagem de neutrófilos e monócitos e IM de 89±4, 58±10 e 42±6%, respectivamente. O pré-tratamento com ZM241385 reverteu totalmente o efeito antiinflamatório da AD. O DCPX reverteu o efeito da AD sobre a migração de mononucleares e exsudato. **Discussão:** Os resultados demonstram que a AD apresenta atividade antiinflamatória sobre a inflamação na cavidade pleural, induzida pela CAR, principalmente por estar atuando nos receptores A_{2a}, podendo haver contribuição de receptores A₁ neste efeito. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq, FAPESC, UFSC

06.171

ACÇÃO DO VENENO DE *Crotalus durissus terrificus* (VCdt) SOBRE A INTERACÇÃO LEUCÓCITO-ENDOTÉLIO INDUZIDA POR CARRAGENINA (Cg) OU POR VENENO DE *Bothrops jararaca* (VBj) NA MICROCIRCULAÇÃO DO MÚSCULO CREMÁSTER DE CAMUNDONGOS.

Nunes, F. P. B.¹; Zychar, B. C.¹; Gonçalves, L. R. C.¹; Sousa-E-Silva, M. C. C.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia

Introdução: O VCdt além de não apresentar atividade flogística importante, inibe atividades biológicas de macrófagos e a migração de células inflamatórias induzidas por tioglicolato. O objetivo desse trabalho foi verificar o efeito do veneno sobre a interação leucócito-endotélio induzida por Cg ou VBj, utilizando modelo de microscopia intravital. **Métodos:** O VCdt (1,5µg) ou salina (100µL) foram injetados via s.c. no dorso dos animais, 1h antes ou 1h após a injeção dos agentes flogísticos, Cg (300µg) ou VBj (1µg) em 100 µL, no s.c. da bolsa escrotal de camundongos Swiss. Após 2h, o cremaster foi exposto e a microcirculação analisada. Dez min após a exposição da microcirculação foram avaliados o *rolling* e adesão dos leucócitos, durante 1 min, em uma porção de 100µm de uma vênula pós-capilar (diâmetros de 20 a 40µm). **Resultados:** O pré-tratamento com VCdt diminuiu a adesão (VBj: 68%;Cg: 96%), porém aumentou *rolling* (VBj: 246%; Cg 371%) significativamente, quando comparados ao grupo controle tratado com salina. No pós-tratamento com VCdt (1h após os agentes flogísticos), também foi observado redução no número de células aderidas (VBj: 72%; Cg:54%) e aumento dos leucócitos em *rolling* (VBj: 185%; Cg: 90%). **Conclusão:** O VCdt inibe a interação leucócito-endotélio induzida pelos dois agentes flogísticos utilizados (Cg e VBj), diminuindo a adesão e conseqüentemente a migração celular para o tecido. Esse efeito pode contribuir para a ação antiinflamatória do VCdt. **Apoio Financeiro:** CAPES, CNPq e FAPESP

06.172

EFEITO DO GEL DE ALOE VERA EM FERIDAS DE CAMUNDONGOS SOB USO DE CICLOFOSFAMIDA

Viana, F. A. C.¹; Frota, R. B.²; Parente, C. E. G.²; Antunes, P. H. M.²; Paiva, M. S. C.²; Moraes, M. E. A.²; Moraes, M. O.²; Bezerra, M. M.³; alves, a. P. N. N.⁴; Lima, V.² - ¹UFC - Unidade de Farmacologia Clínica; ²UFC - Fisiologia e Farmacologia; ³UFC - Faculdade de Medicina; ⁴UFC - Clínica Odontológica

INTRODUÇÃO: Feridas de decúbito são efeitos colaterais comuns em pacientes sob quimioterapia. A cicatrização de tais lesões reduz-se risco de infecções. Tem sido descrita a atividade cicatrizante do gel de Aloe Vera (AV). Nesse estudo, analisou-se o efeito de AV em feridas em camundongos leucopênicos.

MÉTODOS: Feridas (7mm-Ø) foram feitas com bisturi por raspagem em ambos os lados dorsais de camundongos machos *Swiss* (± 25 g) leucopênicos por ciclofosfamida (CTX150mg/kg/ip;-2d) ou de animais que receberam salina (Sal; 0,5ml). Feridas esquerdas receberam gel de AV, e as direitas, carbopol (Cb; veículo) de cada animal 2x/diariamente. Nos dias 4, 7 e 10, grupos de animais foram mortos, e parâmetros locais e sistêmicos avaliados: cicatrização de ferida (%), histologia, hemograma $\times 10^3$ /ml e variação de peso.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A leucopenia foi confirmada no dia 0 (CTX=0,7 \pm 0,1; Sal=8,3 \pm 0,6). Nos animais que receberam CTX ou Sal, AV causou redução ($p < 0,05$) das feridas a partir do 4ºd (CTX-AV=52,6 \pm 6,9; Sal-AV=75,4 \pm 3,6), comparados às tratadas com Cb (CTX-Cb=28,2 \pm 5,1; Sal-Cb=55 \pm 3,8). No 10ºd, observou-se resolução das feridas com AV (CTX-AV=89,9 \pm 3,1; Sal-AV=91,4 \pm 1,6), comparando-se ao uso do Cb (CTX-Cb=83,2 \pm 2,1; Sal-Cb=75 \pm 1,8), sendo corroborados pela histologia. Observou-se pico de leucocitose no 4ºd (CTX=11,6 \pm 1,1; Sal=4,9 \pm 0,3), normalizando-se no 10ºd. Não se observou diferença de peso entre os animais ($p > 0,05$). Sugere-se que o gel de AV acelera a cicatrização de feridas em animais leucopênicos ou não. **Apoio Financeiro:** CNPq

06.173

AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTINOCICEPTIVA (AA) E ANTIINFLAMATÓRIA (AI) DE EXTRATO CLOROFÓRMICO DE *Baccharis platypoda* (ECBP)

Scheschowitsch, K.¹; Jurgensen, S.¹; Pizzolatti, M. G.²; Ribeiro-do-Valle, R. M.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - Química

INTRODUÇÃO: *Baccharis platypoda* DC (Asteraceae), planta do gênero popularmente conhecido como “carqueja”, é utilizada pela medicina popular para tratar doenças inflamatórias, entre outros. Este estudo avaliou as atividades AA e AI de ECBP, o qual é composto principalmente por flavonóides, diterpenos e triterpenos. **MÉTODOS:** Camundongos suíços machos (30-40 g; n=8), tratados com diferentes doses de ECBP, foram avaliados nos modelos das Contorções Abdominais (CA) induzidas por ác. acético 0,6% (i.p; 0,1 mL/10 g), Teste da Formalina 2,5% (TF; 20mL/pata; i.pl), Teste da Placa Quente (TPQ; 52 ± 0,5 °C) e Edema de Pata (EP) induzido por carragenina (300µg/25µl/pata; i.pl). Valores expressos como média ± E.P.M. **RESULTADOS:** O pré-tratamento com 100 e 300 mg/kg de ECBP (60 min; v.o.) reduziu as CA em 49,5 e 66,7%, respectivamente (controle 27±3). No TF, as doses de 30, 100, 200 e 300 mg/kg de ECBP (30 min; i.p.) reduziram significativamente a nocicepção apenas na segunda fase em 18%, 43%, 57% e 93%, respectivamente (controle 289,4±15s). No TPQ, ECBP (100 e 300 mg/kg; i.p; 30 min) não aumentou a latência dos animais. O tratamento com ECBP (i.p; 30 min; 100 e 300 mg/kg) inibiu o EP em 33% e 50%, respectivamente (AUC; porcentagem relativa ao controle). **DISCUSSÃO:** Os resultados demonstram que ECBP possui efeito AA em modelos de nocicepção química, porém não térmica. Este efeito pode ser devido à ação AI, conforme sugerem evidências obtidas no EP. **Apoio Financeiro:** CNPq/FAPESC

06.174

EFEITO ANTIINFLAMATÓRIO DO IRIDÓIDIDE PLUMIERÍDEO (PL), ISOLADO DA *Allamanda cathartica*

Bortolini, K. A.¹; Yunes, R.²; Malheiros, A.³; Rae, G. A.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UFSC - QMC/CFM; ³UNIVALI - NIQFAR/CCS

Introdução: O PL apresenta potente atividade anti-edematogênica contra diferentes agentes flogísticos (Bortolini et al; FeSBE 2005). O presente estudo avalia os possíveis efeitos inibitórios do PL sobre atividade de mieloperoxidase (MPO) após inflamação induzida por carragenina (CG), bem como sobre a inflamação induzida por CFA. **Métodos:** No ensaio de MPO, camundongos foram tratados com PL (1 ug/kg; v.o.) 1 h antes da injeção de CG (300 ug/pata). Após 6 h, foram sacrificados e a pele da pata foi removida para análise bioquímica. Na inflamação induzida por CFA (25 ml/pata), os animais foram tratados com PL ou 1 h antes + 5 d após o CFA, ou apenas 24 h após. O aumento do volume da pata foi medido diariamente por pletismometria por 21 d. **Resultados:** A CG aumentou a atividade da MPO de $0,07 \pm 0,02$ para $0,27 \pm 0,03$ D.O./mg de tecido e este efeito foi reduzido por PL e Dexametasona (0,5 mg/kg, s.c.) para $0,15 \pm 0,01$ e $0,09 \pm 0,01$ (N = 12-16), respectivamente. Ambos os tratamentos com PL causaram inibição intensa do edema induzido por CFA entre os dias 2 e 10 (inibições entre 65 e 35%; N = 4-5). Os tratamentos foram igualmente eficazes quando foram repetidos a partir do dia 17 (i.e. quando o edema por CFA já havia retornado a níveis normais). **Conclusão:** Os resultados confirmam a potente ação anti-inflamatória do PL e sugerem que a mesma possa estar relacionada à inibição da MPO. Contudo, os mecanismos subjacentes a estes efeitos requerem melhor caracterização. **Apoio Financeiro:** CAPES, PRONEX, CNPq.

06.175

DO TRPV1 RECEPTORS MEDIATE PROTECTIVE EFFECT ON ENVIRONMENTAL CHEMICALS-INDUCED AIRWAY INFLAMMATION?

Val, L.¹; Dantas, M. M. C.¹; Teles, A. M.¹; Ligeiro de Oliveira, A. P.¹; Tam, C.²; Tavares de Lima, W.¹; Barreto, M. A. A.¹; Muscara, M. N.¹; Zorn, T. M. T.³; Brain, S.²; Costa, S. K. P.¹ - ¹ICB - USP - Farmacologia; ²King's College London - Center for Cardiovascular Biology and Medicine ; ³USP - Histologia

Introduction: inflammatory response evoked by intra-tracheal injection of diesel exhaust (DE) and 1,2-naphthoquinone (1,2-NQ) in the rat airway have been recently reported (Teles et al., 2005; www.pA2online.org). Using capsaicin-treated rats, this oedema is markedly reduced whereas MPO activity is potentiated. In the present work, we used normal and vanilloid (TRPV1) receptor knockout (KO) mice to compare these effects. The study also examined the effect on the isolated trachea and intrapulmonary bronchi reactivity as well as in cell influx in bronchoalveolar lavage (BAL) of normal and capsaicin-treated rats.

Methods: male and female Wistar rats (250 g), either control or capsaicin-treated, were anaesthetized with ketamine and xylazine. Rats intratracheally received DE (1 mg/kg) plus 1,2-NQ (35 nmol/kg) or vehicle. Isolated tissue and BAL cell influx were evaluated 3 h after treatment. Mice were anaesthetized with isoflurane, received i.v. injection of ¹²⁵I-BSA and then pollutants. After 60 min or 3 h, the mice were killed and airways were removed. Both histopathological and oedema assays were assessed as described (Teles et al., 2005). The results were expressed as the mean \pm SEM and were compared by ANOVA and Bonferroni's modified *t*-test. **Results:** capsaicin-treated rats that received pollutants exhibited an exaggerated total cell count in BAL compared to normal rats. The isolated trachea and bronchi from normal rats treated with the pollutants developed a severe hyporesponsiveness in response to methacholine. This was slightly reduced in capsaicin-treated rats. In normal mice airway, DE plus 1,2-NQ evoked a potent plasma extravasation, which was almost absent in TRPV1 KO mice. The histopathological analysis in the lung of TRPV1 KO mice treated with pollutants revealed marked cellular infiltration compared to normal mice. **Conclusions:** we provide evidence that the absence of C-fibers counteracts leukocyte influx induced by DE and 1,2-NQ in the rat airway, thus strongly suggesting that the immunomodulatory effects of neonatal capsaicin on rodent airways are dependent on TRPV1-mediated regulation of neuropeptides (eg. tachykinins). TRPV1 receptors are required for pollutants-induced plasma extravasation, thus TRPV1 antagonists may be useful in the treatment of some respiratory diseases. **Supported by:** CNPq, CAPES, Fapesp (Brazil) and BHF (U.K.)

06.176

A COMPARATIVE STUDY OF RHEUMATOID ARTHRITIS MODELS USING DIFFERENT RAT STRAINS: ROLE OF C-FIBERS.

Camargo, L. L.¹; Yshii, L. M.¹; Denadai-Souza, A.¹; Teixeira, S. A.¹; Florenzano, J.¹; Val, L.¹; Pires, J. M.¹; Barreto, M. A. A.¹; Frigo, L.²; Muscara, M. N.¹; Costa, S. K. P.¹ - ¹USP - Farmacologia; ²Unicsul - Farmacologia

Introduction: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory disease of the distal joints, where neurovascular mechanism might play a role. The aims of this study were first to set up and to compare models of RA in terms of clinical, histological, and immuno-inflammatory features using different rat strains and secondly, to determine the contribution of neurogenic mechanism among the models. **Methods:** Wistar and Sprague-Dawley (SD) rats (150 - 250 g) were used and anaesthetized accordingly. Inflammation of the Wistar and SD rat knee joint was induced by intra articular (i.a.) injection of carrageenan (3 %) and kaolin (10 %), respectively. In a separate set of Wistar rats, the antigen-induced arthritis (AIA) was obtained by a s.c. injection of antigen solution into the flank on two sites at the base of the tail and by i.a. injection of m-BSA (Brauer et al.1994, Agents actions 41:96-98). The measurements of inflammatory signs including joint swelling, increased permeability, histopathology, body weight and nociceptive responses were monitored before and during the course of RA, that varies from 30 min to 4 days. **Results:** In the ipsilateral knee of Wistar rats, carrageenan evoked a potent and time dependent plasma extravasation and oedema, compared to intravascular volume. SD rats exhibited an exaggerated response to i.a. injection of kaolin characterized by an increase in leukocyte emigration into the knee cavity, knee oedema and pain measured by quantitative impairment of walking ability. Male Wistar AIA rats developed a severe mono-arthritis which shares features in common with human RA such as joint oedema, cell influx, pain and the histopathological analysis revealed marked cellular infiltration, hyperplasia and pannus formation. **Discussion:** Taken together, our preliminary data show that Wistar rats RA models shares several arthritic features with the SD model. Hence, given the same clinical characteristics of Wistar rats and SD rats, the Wistar rats are favored as they are more cost effective and widely available. Acknowledgments: Irene Maria Gouvea for technical help. **Supported by:** CNPq, Fapesp and Capes.

06.177

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CICATRIZANTE DE DIFERENTES FORMULAÇÕES TÓPICAS CONTENDO CONFREI (*Symphytum officinale*)

Araujo, L. U.¹; Silva, P. F.¹; Cota, F. A. F.¹; Reis, P. G.¹; Mosqueira, V. C. F.¹; Grabe-Guimaraes, A.¹; Silva-Barcellos, N. M.¹ - ¹UFOP - Farmácia

O confrei (*Symphytum officinale*) é uma planta medicinal da família *Borraginaceae* de efetivo uso terapêutico como cicatrizante em humanos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade cicatrizante de três diferentes formulações farmacêuticas contendo confrei em modelo experimental por ferida aberta em ratos Wistar. Cem ratos Wistar fêmeas, previamente preparadas pelo modelo de ferida aberta para o estudo de cicatrização, foram subdivididos em 10 grupos e receberam tratamento diário das preparações (gel de carbopol, loção lanette e loção alcoólica), contendo o extrato de confrei ou alantoína (padrão), e um grupo não tratado como controle. As variações da área das feridas foram estimadas por planimetria nos tempos 0, 3, 7, 11 e 14 dias de tratamento. Os animais tratados com loção lanette confrei e loção alcoólica confrei apresentaram o processo de fechamento da ferida mais rápido que os demais grupos. Esta diferença pode ser melhor observada nos dados obtidos no 7º dia de tratamento, onde os percentuais de redução da ferida foram: loção lanette confrei 65,7±5,4 %, loção alcoólica confrei 50,2±3,8 % e controle 40,5±9,0 %. A preparação gel de carbopol apresentou este mesmo perfil: gel de carbopol confrei 36,7±7,5 % e controle 40,5±9,0 %. Os resultados obtidos mostram a interferência dos adjuvantes utilizados nas diferentes formulações estudadas no processo de fechamento da ferida induzido pelo confrei, sendo que os animais tratados com loção lanette confrei apresentaram um melhor perfil de cicatrização. **Apoio Financeiro:** PIP/UFOP

06.178

ATIVIDADE ESPASMOLÍTICA DO EXTRATO HEXÂNICO DE PERICARPO DE *Rheedia brasiliensis*

Coelho, L. P.¹; Alves, F. M. S.¹; Menezes, M.¹; Silva, P. M. R. e¹; Cordeiro, R. S. B.¹; Santos, M. H.²; Martins, M. A.¹ - ¹FIOCRUZ - D.F.F., IOC; ²UNIFAL - Farmácia

Introdução: O extrato hexânico de pericarpo de *Rheedia brasiliensis* (EHP) possui concentração elevada de benzofenonas polipreniladas, que são substâncias com atividades vaso-relaxante, antioxidante e antiinflamatória reportadas. **Objetivo:** Verificar uma possível atividade espasmolítica do EHP no sistema de anéis isolados de traquéia de cobraia, tencionados por estímulos imunológicos e não imunológicos. **Métodos:** Os segmentos foram incubados com EHP (2,5-180 µg/mL) por 15 min antes das curvas cumulativas de carbacol (10^{-8} - 10^{-4} M), histamina (10^{-7} - 10^{-3} M) e ovoalbumina (0,001-100 µg/mL), esta última feita em traquéias de cobaias sensibilizadas. Cumulativas de Ca^{+2} em tecidos despolarizados por KCl (60 mM) foram também investigadas (0,01 a 30 mM). **Resultados:** O EHP não alterou o tonus basal, mas inibiu os espasmos traqueais induzidos por antígeno (22-45 µg/mL), histamina (10-40 µg/mL) e carbacol (22-90 µg/mL) de forma concentração-dependente. A resposta ao Ca^{+2} em condições de despolarização foi também inibida pelo EHP (40-180 µg/mL). **Conclusão:** Os resultados indicam que o EHP é capaz de inibir a contração traqueal induzida por estímulos imunológicos e não imunológicos provavelmente por interferir com entrada e/ou ação intracelular de íons Ca^{+2} . **Apoio Financeiro:** FAPERJ, PAPES e CNPq

06.179

MECHANISMS UNDERLYING THE SPASMOLITIC ACTIVITY OF 7-EPICLUSIANONE IN GUINEA PIG TRACHEA

Coelho, L. P.¹; Alves, F. M. S.¹; Menezes, M.¹; Silva, P. M. R. e¹; Cordeiro, R. S. B.¹; Santos, M. H.²; Martins, M. A.¹ - ¹FIOCRUZ - D.F.F., IOC; ²UNIFAL - Farmácia

Aim: Plant isolated compounds have been screened in our laboratory in a systematic effort to discover new antiasthma substances. This study was undertaken in order to investigate the possible mechanism of spasmolytic action of 7-EPICLUSIANONE (EPI), a naturally occurring molecule, isolated from *Rheedia brasiliensis*. **Methods:** Guinea-pig trachea rings were mounted in isolated organ bath. The contractile response to 2.5 μ M carbachol was measured before and after a 15 min exposure of intact trachea rings to 7-EPI. In order to clarify the mode of action of 7-EPI, 1 μ M propranolol, 1 μ M glibenclamide or 100 μ M L-NAME were given 10 min before 7-EPI pretreatment. **Results:** We found that 7-EPI did not modify the tracheal basal tonus but inhibited in 50% carbachol-evoked contraction. Pretreatment with either glibenclamide or L-NAME clearly abolished the 7-EPI protective effect whereas propranolol was inactive. **Conclusion:** These findings indicate that the 7-EPI antispasmodic effect on tracheal smooth muscle is independent of β -adrenoreceptors but seems to depend on both nitric oxide and ATP-sensitive K(+) channels. **Supported by:** FAPERJ, PAPES and CNPq

06.180

EFFECT OF *Crotalus durissus terrificus* SNAKE VENOM AND CROTOXIN ON CYTOKINE SECRETION BY MACROPHAGE.

Sousa-E-Silva, M. C. C.¹; Sampaio, S. C.¹; Brigatte, P.¹; Curi, R.²; Cury, Y.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia; ²ICB - USP - Fisiologia e Biofísica

Introduction: Previous work showed that *Crotalus durissus terrificus* snake venom (CdtV) and crotoxin (CTX), the main toxin of CdtV, modulate macrophage function, inhibiting the spreading and phagocytic activity of these cells. Macrophages, through production of various cytokines, modulate inflammation and innate and adaptive immune responses. The aim of the present work was to characterize the effect of CdtV and CTX on cytokine secretion by macrophages. **Methods:** Peritoneal macrophages, obtained from Wistar rats, were incubated with CdtV or CTX for 2h and incubated with LPS (5µg/ml) for 24 h or with RPMI medium. In order to induce a phagocytic process, particles of opsonized zymosan were subsequently added to the RPMI incubation medium for 2h. The levels of IL-1a, IL-1b, IL-6 and TNF-a in the culture supernatants were determined by ELISA. **Results:** CdtV inhibited secretion of IL-1a (0.5µg/ml: 50%; 1.0µg/ml: 70%) and IL-1b (0.25µg/ml: 129%; 0.5µg/ml: 91%; 1.0µg/ml: 28%) induced by LPS. The phagocytic process increased cytokine levels (63%). This increase was inhibited by CdtV (IL-1a, 0.5µg/ml: 63% and IL-1b, (0.5µg/ml; 1.0µg/ml: 100%). CdtV did not alter TNF-a and IL-6 secretion. Incubation with crotoxin (0.08; 0.15; 0.3 µg/ml) did not modify cytokine secretion induced by LPS or opsonized zymosan. **Conclusions:** The CdtV inhibits the secretion of IL-1a and IL-1b. This effect is not mediated by crotoxin **Supported by:** FAPESP

06.181

ARTRITE POR ADJUVANTE EM RATOS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSOS

Torres, M. G.¹; Cuman, R. K. N.²; Dantas, J. A.²; Caparroz-Assef, S. M.²; Bersani-Amado, C. A.² - ¹FAI - Faculdades Adamantinenses Integradas - Farmácia; ²UEM - Farmácia e Farmacologia

INTRODUÇÃO: Estudos preliminares realizados em nosso laboratório demonstraram que a resposta inflamatória aguda em ratos espontaneamente hipertensos (SHR) difere dos ratos normotensos (NTR) de acordo com a natureza do estímulo inflamatório. Neste trabalho investigamos o desenvolvimento da artrite induzida pelo adjuvante completo de Freund (ACF) em SHR e NTR. **MÉTODOS:** Foram utilizados ratos machos, das linhagens SHR e Wistar pesando 250 a 300g. Os animais receberam injeção de 0,1mL de suspensão de *M. tuberculosis* (5,0mg/mL) na pata posterior esquerda. O volume de ambas as patas posteriores (injetada e não-injetada), foi medido pletismograficamente no 7º, 14º, 21º e 28º dia. O aparecimento e a gravidade das lesões secundárias foram avaliadas a partir do 10º dia atribuindo valores de 1-5 (nódulos em ambas orelhas, +2; nódulos na cauda, +1; edema em ambas patas dianteiras, +2). Zero indicando ausência de lesão. **RESULTADOS:** A resposta inflamatória avaliada nos diferentes períodos foi muito intensa em ambas as patas dos NTR (pata injetada: 253±14; 376±33; 400±34; 392 ±59 e pata não-injetada: 0,5±0,6; 77±6; 145±8; 142±5µL). Nos SHR somente o volume da pata injetada estava aumentado (pata injetada: 108±9; 137±7; 320±8; 413±7 e pata não-injetada: 3±1; 7±2; 6±2; 12±5µL). A gravidade das lesões avaliada no 14º, 21º e 28º dia foi: NTR(3,9±0,3; 4,4±0,2; 4,5±0,1) e SHR(0,2±0,1; 1,0±0,3; 1,0±0,3). **CONCLUSÃO:** Os SHR não desenvolveram as manifestações da artrite induzida por adjuvante.

06.182

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA DIACEREÍNA NA MONOARTRITE INDUZIDA POR CFA EM RATOS

Duarte, M. S.¹; Gadotti, V. M.¹; Santos, A. R. S.¹ - ¹UFSC - Ciências Fisiológicas

Introdução: A diacereína (DCR), droga de referência no tratamento da osteoartrite, é um potente inibidor da síntese e atividade de várias citocinas pró-inflamatórias. No entanto há poucos trabalhos na literatura demonstrando seu efeito em modelos comportamentais. Além disso, estudos prévios do nosso grupo de pesquisa demonstraram recentemente que a DCR apresenta importante atividade antinociceptiva em vários modelos de nocicepção química em camundongos e ratos. Desta forma, o presente trabalho investigou o possível efeito antinociceptivo do tratamento crônico com DCR na monoartrite causada pelo Adjuvante Completo de Freund (CFA) em ratos. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar fêmeas (180-250 g, n=10 por grupo). A artrite foi induzida pela injeção intra-articular (i.a.) de 0,05 mL de CFA na articulação do joelho direito dos animais. O número de vocalizações, a alodínia mecânica, a dor espontânea e o edema de joelho foram avaliados em diferentes dias 1h após a administração diária de DCR (30 mg/Kg, v.o.) ou salina (1mL/kg, v.o.) ao longo de 21 dias. **Resultados:** O tratamento crônico com DCR causou significativo efeito antinociceptivo em relação ao número de vocalizações e em relação a dor espontânea com inibições de 92±11% e 55±14%, respectivamente. A DCR também inibiu a alodínia mecânica e o edema de joelho, com inibições de 97±9% e 73±11%, respectivamente. Além disso, a administração crônica com DCR não foi capaz de induzir tolerância nem provocar qualquer alteração da coordenação motora nos animais. **Discussão:** Estes dados estendem dados anteriores e demonstram que a DCR apresenta importante efeito antinociceptivo, anti-alodínico e anti-edematogênico, na monoartrite induzida pelo CFA em ratos. Além disso, os nossos resultados mostram que a DCR foi bem tolerada pelos animais, pois não exibiu efeitos colaterais detectáveis e apresentou boa biodisponibilidade. **Apoio Financeiro:** CNPq; CAPES; UFSC.

06.183

MECANISMOS ENVOLVIDOS NA HIPERNOCICEPÇÃO MECÂNICA INDUZIDA PELA INJEÇÃO INTRANEURAL DE TNF α NO PLEXO BRAQUIAL DE CAMUNDONGOS.

Quintao, N. L. M.¹; Reis, F.²; Pesquero, J. B.²; Campos, M. M.³; Calixto, J. B.¹ - ¹UFSC - Farmacologia; ²UNIFESP - EPM - Biofísica; ³PUC - RS - Odontologia

Introdução: Recentemente, foi demonstrado o envolvimento do TNF α na gênese e na manutenção da hipernocicepção térmica e mecânica após a avulsão do plexo braquial de camundongos. O presente trabalho avaliou os possíveis mecanismos envolvidos na hipernocicepção mecânica induzida pela injeção intraneural (IN) de TNF α no plexo braquial de camundongos. **Métodos e Resultados:** Foram usados camundongos fêmeos (20-30 g, N=4-6, suíços, C57/BL6, B₁RKO e B₂RKO). Os animais receberam uma injeção IN de TNF α (12,5 fg/sítio) co-administrado com PBS ou com os anticorpos anti-TNF α ou anti-IL-1 β (10 ng/sítio) ou, anti-NGF, anti-BDNF ou anti-GDNF (0,5 mg/sítio). A hipernocicepção mecânica foi avaliada utilizando filamentos de von Frey (0,16 g) na pata dianteira direita. A injeção IN de TNF α induziu hipernocicepção mecânica em camundongos com duração de 7 dias. Esta resposta foi reduzida significativamente pelos anticorpos anti-TNF α (72 \pm 7 %) e anti-IL-1 β (78 \pm 6 %), bem como pelos anticorpos anti-NGF (84 \pm 6 %) e anti-GDNF (55 \pm 6 %). Porém, o anti-BDNF produziu inibição parcial, apenas até o 4º dia após o tratamento (89 \pm 3 %). A hipernocicepção mecânica induzida pelo TNF α foi quase totalmente abolida em animais B₁RKO e B₂RKO (72 \pm 7 % e 77 \pm 4 %). **Discussão:** Os resultados sugerem o envolvimento de citocinas, fatores neurotróficos e receptores cininérgicos B₁ e B₂ na hipernocicepção mecânica induzida pela injeção IN de TNF α em camundongos. Estes dados auxiliam no melhor entendimento do papel do TNF α na dor neuropática. **Apoio Financeiro:** CNPq, PRONEX, FAPESC e CAPES.

06.184

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DE NOVOS CARBAMATOS

Maroñas, P. A.¹; Sudo, R. T.¹; Corrêa, M. B.²; Garden, S. J.²; Pinto, A. C.²; Zapata-Sudo, G.¹ - ¹UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; ²UFRJ - Instituto de Química

Introdução: Novos carbamatos (4 cetalizados *N*-carbamoilados e 5 isatilidênicos *N*-carbamoilados) foram sintetizados a partir da isatina com a intenção de investigar os efeitos farmacológicos no sistema nervoso central. **Métodos:** Os carbamatos (20 mg/kg) ou morfina (2 mg/kg) foram administrados por via intraperitoneal (i.p.) em camundongos suíços machos (18-25 g) 30 minutos antes de serem colocados numa placa quente (52°C). Foi medido o tempo de permanência dos animais até o momento da retirada da pata antes e após a injeção dos carbamatos. O tempo de retirada da pata do animal foi medida antes e após tratamento com os carbamatos ou indometacina (2 mg/kg) no teste de Hargreaves, que consistia em incidir uma fonte de calor radiante na região plantar da pata traseira após injeção subcutânea de carragenina 1%. **Resultados:** A maioria dos carbamatos, exceto MB75 e MB76, apresentou efeito antinociceptivo de forma dose dependente no modelo da placa quente com potência em ordem decrescente de MB68>MB29>MB79>MB84>MB104>MB108. O efeito farmacológico máximo do MB68 foi obtido na dose de 75 mg/kg com 30,0±1,8% de atividade analgésica. Apenas MB68 apresentou efeito antinociceptivo no modelo de dor inflamatória. Na dose de 100 mg/kg a permanência sob estímulo térmico foi de 4,8±0,4 s comparado a 4,9±0,3 s com tratamento de indometacina. **Conclusões:** A modificação da estrutura da isatina proporcionou a formação de novos carbamatos com ação analgésica em modelos de dor central e inflamatória. **Apoio Financeiro:** FAPERJ, FUJB, CNPq, CAPES

06.185

DIFFERENT MECHANISMS UNDERLIE THE ANALGESIC ACTION OF PARACETAMOL, DIPYRONE AND CELECOXIB IN A RAT MODEL OF INFLAMMATORY PAIN.

Rezende, R. M.¹; Bakhle, Y. S.²; Francischi, J. N.¹ - ¹UFMG - Farmacologia; ²Imperial College of London - Leukocyte Biology

Paracetamol (PAR) and dipyron (DIP) shared with the selective inhibitors of COX-2 the ability to induce hypoalgesia, a condition in which nociceptive thresholds were raised above normal resting levels (Francischi et al, 2005). As these studies of the selective inhibitors had disclosed a mechanism involving endogenous opioids rather than PGs, it was reasonable to assess to what extent the hypoalgesia induced by PAR and DIP were mediated by the same mechanism. Inflammation was induced in one hind paw of rats by intraplantar injection of lambda-carrageenan (CG) and the contralateral paw inject with saline. Measurements of the nociceptive threshold for paw withdrawal from a mechanical apparatus were obtained before CG and hourly in the subsequent 6 h. Development of oedema was also followed by paw volume measurements made in parallel. The analgesics or vehicle were subcutaneously (sc) injected 0.5 h before CG. PAR and DIP (60-360 mg/kg) or celecoxib (CX; 12 mg/kg) reversed hyperalgesia induced by CG and caused hypoalgesia, which to PAR was present also in the non-inflamed paws. Sc naltrexone (NTX) reversed partially the hypoalgesia induced by PAR with no effect in DIP-treated animals. Local NTX administration reversed completely the hypoalgesia in CX-animals, but not in PAR or DIP-treated animals. PAR and DIP-treated animals also presented reduction in paw oedema, an effect not shared with CX-animals. **Reference:** Francischi JN, França DS, Bakhle YS. *Inflamm Res* 2005; 54:S164. **Supported by:** FAPEMIG, CNPq, CAPES.

06.186

PADRONIZAÇÃO DE UM MODELO COMPORTAMENTAL DE ANÁLISE DA DOR DECORRENTE DE INFLAMAÇÃO ARTICULAR

Dias, R. G.¹; Picolo, G.¹; Cury, Y.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia

Introdução: Durante inflamação articular, há perda da cartilagem e intenso infiltrado de polimorfonucleares (PMN), principalmente na fase aguda. Adicionalmente, o processo é acompanhado de dor local. Dados experimentais têm mostrado que a injeção intraarticular (i.a.) de carragenina (Cg) induz este quadro de inflamação. O objetivo deste trabalho é padronizar novo modelo de avaliação de dor na vigência de inflamação articular induzida por Cg. **Métodos:** A inflamação foi induzida pela injeção de Cg (200mg/100mL) na articulação fêmur-tíbio-patelar de ratos *Wistar*, machos. 3 horas após foram determinadas alterações na migração leucocitária e foi realizada a análise comportamental da dor pelo teste do *Footprint* modificado, que consiste na impressão das patas (pintadas com tinta de carimbo) dos animais ao caminhar dentro de um tubo (1m X 7cm) sobre papel branco. Foram analisados o n° e distância entre pegadas e porcentagem de pegadas inteiras. **Resultados:** A Cg causou aumento de PMN ($8,3 \times 10^6$ / mL) e ocorreu diminuição do número de pegadas inteiras (em %, Salina: $94 \pm 2,8$; Cg: $69 \pm 5,2$), sendo observadas pegadas mais curtas, sem apoiar totalmente a pata no chão e revertido pelo uso de indometacina. **Conclusão:** A injeção i.a. de Cg acarretou resposta inflamatória característica, acompanhada de alterações locomotoras sugestivas de dor, indicando que o modelo de *Footprint* pode auxiliar nas análises de nocicepção em estudos de inflamação articular. **Apoio Financeiro:** CAPES

06.187

COX-2 MEDEIA O EFEITO INIBITÓRIO DO C-TERMINAL DA S100A9 MURINA SOBRE A FAGOCITOSE POR CÉLULAS PERITONEAIS ADERENTES

Pagano, R. L.¹; Sampaio, S. C.¹; Juliano, L.²; Giorgi, R.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia; ²UNIFESP - EPM - Instituto de Farmacologia

Introdução: O C-terminal da proteína S100A9 murina (pS100A9m) inibe, *in vitro* e *in vivo*, o espriamento e a fagocitose de células peritoneais aderentes (CPAs) murinas. Neste trabalho foi investigada a participação dos eicosanóides na inibição induzida pelo pS100A9m e sua ação sobre proteínas do citoesqueleto. **Métodos e Resultados:** Células peritoneais de camundongos Swiss (1×10^5 células) aderidas a laminulas de vidro foram incubadas com indometacina (Indo), inibidor de ciclooxigenase (COX); zileuton (ZLT), inibidor da 5-lipoxigenase e celecoxib (CXB), inibidor específico da COX-2, em ensaios *in vitro*. O pS100A9m (0,25µg/mL) foi incubado por 1h com as CPAs. Para ensaios *in vivo*, o pS100A9m foi administrado (1µg/mL, v. ip.), 1h antes da coleta das CPAs, em animais pré-tratados com os fármacos. Células espraçadas foram incubadas por 1h com *Candida albicans* (1×10^6 partículas). Ensaios imunohistoquímicos foram realizados sobre a polimerização de F-actina e a fosforilação de tirosina. O efeito inibitório do pS100A9m sobre a fagocitose de CPAs foi revertido pela Indo e pelo CXB, tanto *in vitro* quanto *in vivo*. O pS100A9m inibiu a polimerização de actina de CPAs, a qual foi revertida pelo CXB. **Discussão:** A via COX-2 participa do efeito inibitório do pS100A9m sobre a fagocitose por CPAs. Ainda, modula a diminuição da polimerização dos filamentos de actina induzida pelo peptídeo. **Apoio Financeiro:** FAPESP e Fundação Butantan

06.188

CÉLULAS B-1 MODULAM A AÇÃO INIBITÓRIA DO C-TERMINAL DA PROTEÍNA S100A9 MURINA SOBRE A FAGOCITOSE POR MACRÓFAGOS

Pagano, R. L.¹; Lorenzo, B. H. P.²; Sampaio, S. C.¹; Juliano, L.³; Mariano, M.²; Giorgi, R.¹ - ¹Instituto Butantan - Fisiopatologia; ²UNIFESP - EPM - Microbiologia, Imunologia e Parasitologia; ³UNIFESP - EPM - Instituto de Farmacologia

Introdução: O peptídeo idêntico ao C-terminal da S100A9 murina (pS100A9m) inibe a fagocitose de células peritoneais aderentes (CPAs) murinas, compostas por macrófagos e células B-1. As células B-1 modulam a fagocitose de macrófagos de camundongos. Neste trabalho foi avaliado o papel das células B-1 na inibição da fagocitose por CPAs induzida pelo pS100A9m. **Métodos e Resultados:** Macrófagos (1×10^5 células), obtidos de camundongos deficientes de células B-1 (Balb/xid) ou obtidos da medula óssea de camundongos Swiss, foram incubados com o pS100A9m (0,25µg/mL), por 1 h, durante o espreiamento. Em seguida, as células foram incubadas com *Candida albicans* (1×10^6 partículas), por mais 1 h, durante o ensaio de fagocitose. Ainda, foi avaliado o efeito do pS100A9m sobre a fagocitose por macrófagos, obtidos de medula, co-cultivados com células B-1, obtidas de cultura estacionária de CPAs. Os resultados demonstram que o pS100A9m não inibiu as atividades de espreiamento e fagocitose de macrófagos obtidos de Balb/xid ou de medula óssea. O pS100A9m inibiu a fagocitose por macrófagos co-cultivados com B-1, na ausência ou presença de contato direto entre os tipos celulares. **Discussão:** Os dados demonstram que a célula B-1 é fundamental para o efeito inibitório do pS100A9m sobre a fagocitose por macrófagos. **Apoio Financeiro:** FAPESP e Fundação Butantan

06.189

ISOLATED EOSINOPHIL SPECIFIC GRANULES ARE RECEPTOR-MEDIATED SECRETORY-COMPETENT ORGANELLES

Perez, S. A. C.¹; Spencer, L.¹; Melo, R.³; Ghiran, I.²; Bafford, S.²; Dvorak, A.²; Moqbel, R.⁴; Weller, P. F.² -
¹FIOCRUZ - -; ²Harvard - Medicine; ³UFJF - Biology; ⁴Universidade de Alberta - Medicine

Eosinophils are notable for their cytoplasmic specific granules capable of storing cytokines, and their release is dependent upon piecemeal degranulation and/or cytolysis. The presence of isolated granules has been noted in tissues eosinophilia but their function is unknown. Our hypothesis was to investigate that eosinophil granule themselves may have the capacity to respond to receptor-mediated activation that stimulates secretion directly from granules. To test this we studied the responses of human eosinophil specific granules isolated by subcellular fractionation. Eotaxin or IFN-g stimulation induced the release of EPO and b-hex from isolated granules. Lower amount of MBP content was detected in granules after eotaxin stimulation. We observed that isolated granules express CCR-3 and IFNR, and pre-treatment with G-protein receptor inhibitor, PTX, inhibited the release of b-hex induced by eotaxin. Cytokine secretion was also analyzed. IFN-g stimulation elicited dose-dependently release of IL-4, IL-6 but not IL-13. Our results demonstrated for the first time that isolated eosinophil specific granules works as secretory-competent organelles by releasing their content upon receptor-mediated signaling. **Supported by:** NIH and CNPq

06.190

COMPARATIVE STUDY OF EOSINOPHIL CHEMOTAXIS, ADHESION AND DEGRANULATION IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASES

Coppi, L. C.¹; Thomazzi, S. M.²; Antunes, E.³; Ferraz, J. G. P.⁴ - ¹UNICAMP - Medicina Interna; ²UFSE - Fisiologia; ³UNICAMP - Farmacologia; ⁴University of Calgary - Medicine

Introduction: Eosinophils can be identified in tissues obtained from inflammatory bowel disease (IBD) patients, but whether they contribute to IBD pathogenesis is unknown. **Methods:** This study aimed to investigate if isolated eosinophils from ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD) patients are functionally activated compared to healthy volunteers (HV). Eosinophils morphology and activity were investigated using adhesion, chemotaxis and eosinophil peroxidase (EPO) release assays. **Results:** The number of granules per eosinophil from UC and CD patients were higher compared with HV (126% and 47%, respectively; $P < 0.05$; $n = 5$). Eosinophil basal adhesion to human fibronectin and serum was augmented by approximately 2-fold ($P < 0.001$; $n = 5$) in cells from CD patients compared to HV and UC patients. The fMLP(10^{-8} M)-induced chemotaxis in eosinophils from UC and CD patients was greater compared with that of HV (133% and 621%, respectively; $P < 0.05$; $n = 5$). Basal EPO release was increased in eosinophils from UC patients (172%; $P < 0.001$; $n = 5$) compared to HV. No significant differences on basal EPO release in cells from HV and CD patients were found. **Discussion:** Our results indicate that peripheral eosinophils are potentially primed and activated in IBD patients. However, mediator release may be down regulated in cells isolated from UC patients. Activated peripheral blood eosinophils possibly contribute to IBD pathogenesis. **Supported by:** FAPESP and CNPq