

02. Neurofarmacologia

02.001

Efeitos cardiorrespiratórios e comportamentais da substância P no bulbo dorsolateral de ratos. Zocal, C. M.; Sousa, L. O.; Lindsey, C. J. UNIFESP Biofísica

Objetivos: A substância P (SP) é um peptídeo envolvido nas vias aferentes de nocicepção. Estudos anatômicos e imunohistoquímico sugerem que o núcleo paratreminal (Pa5) esteja envolvido no processo nociceptivo. Assim, o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos cardiorrespiratórios da microinjeção de SP no Pa5 (e estruturas circunvizinhas) de ratos acordados. **Métodos:** Ratos Wistar machos (n=16) passaram por cirurgia para implante de cânula guia permanente no núcleo paratrigeminal, e implante de cateter na artéria femoral para registro direto da pressão arterial. Após 2 dias, foram realizadas microinjeções de SP ($10\text{pmol}, 0,1\mu\text{l}^{-1}$) no núcleo e avaliados os efeitos cardiorrespiratórios. A análise histológica identificou os diferentes sítios de injeção: Pa5, trato espinal trigeminal (sp5), núcleo cuneato externo (ECu) e núcleo espinal trigeminal interpolar (SP5I). **Resultados:** A injeção da SP no Pa5 levou a um efeito pressor de 29 mmHg, no Sp5I de 9 mmHg, no sp5 de 3 mmHg e no Ecu 12 mmHg. Animais com sítio de injeção no Pa5 e outras estruturas apresentaram uma variação de 2 a 12 mmHg. A SP levou a um aumento na frequência respiratória (FR) quando o sítio de injeção foi nas seguintes estruturas: Pa5 = 49 RPM, Ecu = 10 RPM, e uma diminuição quando o sítio de injeção foi nas seguintes estruturas: Sp5I = -11RPM, sp5 = -19RPM. Animais com sítio de injeção no Sp5 *pars oralis* dorsal (n=4) apresentaram queda transitória da pressão arterial e comportamentos de "grooming", "genital liking", "teeth chattering", "crouching". **Conclusão:** A SP no Pa5 causou aumento da pressão arterial semelhante a causada pela bradicinina injetada neste núcleo, além de um aumento na frequência respiratória. Devido a SP ser considerada um neuropeptídeo transmissor das vias aferentes sensitivas, poderíamos supor que o aumento da pressão arterial seria causado por ativação dos reflexos cardiorrespiratórios à estimulação nociceptiva, evidenciando a função cardiovascular do Pa5. Com relação ao efeito da respiração parece que os efeitos da SP microinjetada seriam mediados no Pa5 uma vez que as injeções que caíram nas proximidades do núcleo não causaram efeitos ou aparentemente inibiram a frequência respiratória. e os efeitos comportamentais observados pela microinjeção de SP no Sp5 *pars interpolaris* e Sp5 *pars oralis* estaria associada as respostas à estimulação (nociceptiva) pela SP no núcleo sensitivo. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq

02.002

Chronic unpredictable stress increases CRF2 mRNA expression in the lateral septal nucleus in the rat brain. Malta, M. B.¹; Sita, L. V.²; Silva, J. M.²; Bittencourt, J. C.²; Scavone, C.¹; Munhoz, C. D.¹ ¹ICB-USP - Farmacologia; ²USP - Anatomia;

Stress initiates a series of neuronal responses that prepare an organism to adapt to new environmental challenges. However, chronic stress may lead to maladaptive responses that can result in psychiatric syndromes such as anxiety and depressive disorders. Corticotropin-releasing factor (CRF) has been identified as a key neuropeptide responsible for initiating many of the endocrine, autonomic and behavioral responses to stress. CRF exhibits its actions through two distinctly distributed, G-protein coupled CRF receptor subtypes, CRF1 and CRF2 (Van Pett et al., 428(2):191, 2000). Evidence suggests the involvement of CRF1 and CRF2 receptors and their ligands in both acute and recovery phase of stress response. In the present work we investigated whether CUS (chronic unpredictable stress) can modified the expression of CRF2 in male rat brain. Adult male Wistar rats (300-350g) were randomly assigned to either the control or CUS. CUS group was submitted to the protocol stress described in Munhoz et al. (*J. Neurosci.*; 26(14):3813, 2006). Twenty four hours after the last session of stress, the animals were deeply anesthetized with chloral hydrate (35%, 1 mL, i.p.) and perfused via ascending aorta with saline followed by 4% formaldehyde. The encephalons were frozen in dry ice and multiple regularly spaced series of 30 µm-thick sections in coronal plane were cut and mounted in a Superfrost/Plus (Fisherbrand®) slide. For the CRF2 mRNA expression, radiolabeled ³⁵S anti-sense cRNA copies were synthesized for *in situ* hybridization procedure. The quantification was done by integrated optical density (IOD) using Image-Pro® Plus software. CUS increased CRF2 mRNA in the intermediate part of the lateral septal nucleus (LSi) when compared to control group (p<0,05). Therefore, the present data indicates that CUS induced changes of CRF2 expression in the LSi of the rat brain, suggesting that these receptors might be involved in modulatory responses associated to CUS in central nervous system. Apoio Financeiro: FAPESP and CNPq

02.003

Restraint stress promotes compulsive behavior and modulates pineal gland in the rat. Moraes, R. C.¹; Monteiro, A. A.¹; Ferreira, Z. S.¹; Palermo-Neto, J.²; Markus, R. P.¹ ¹USP Cronofarmacologia; ²USP - Neuroimunomodulação

Introduction: Previous studies in our laboratory have demonstrated that the incubation of cultured rat pineal with the adrenal anti-inflammatory hormone, corticosterone, potentiates, while the pro-inflammatory cytokine TNF- α inhibits, NA-induced N-acetylserotonin production, as they enhance or inhibit, respectively, the transcription of AA-NAT gene. In addition, suppression of the nocturnal melatonin surge by acute inflammation, in humans, is inversely correlated with increase in TNF- α (see review by MARKUS, 2007). Restraint stress is usually accompanied by increase in plasma corticosterone (BAUER, 2001) and TNF- α (MADRIGAL, 2002). Therefore, our aim was to test if restraint stress could modulate the nocturnal N-acetylserotonin/melatonin surge. **Methods:** Male Wistar rats (12:12 L/D cycle, aged 3-4 months) were used. In the 1st study, the rats were divided into 2 groups (8-10/group): control with social isolation in housed cage (**C**), and restraint in an apparatus (**R**), both for 0.5 or 2h. Behavioral tests in an open-field (OF) and in a plus-maze (PM) apparatus were performed at the ZT10-12. Yet, the pineal N-acetylserotonin (NAS) and melatonin (MEL) content (ng/pineal) was quantified by HPLC (5/group) after euthanasia at the ZT18-20. In the 2nd study, the rats were divided into 2 groups (3/group): naïve non experimentally manipulated euthanized at ZT11 (**N Day**) or at ZT14 (**N Night**), and restraint in an apparatus for 2h (**R2**) were euthanized at 0, 10, 30, 60 and 120 min after stress. In this study, the plasma corticosterone (**CORTICO**) levels (ng/ mL) were measured by RIA. In both studies, gastric ulcers were determined after euthanasia. The regression of the data were tested by two-way ANOVA. **Results:** Grooming frequency (GF, units/300s) increased around 6.6 times in OF and 2 times in PM, and grooming time (GT, s) increased around 18.3 times in OF and 3.6 times in PM, after 2 hours of restraint, when compared to **C0.5** (GF: 1.1 ± 0.3 , 3.9 ± 1.1 ; GT: 3.5 ± 1.8 , 35.9 ± 12.1 , respectively). Pineal NAS did not modify among groups. Pineal MEL doubled from **R0.5** (1.7 ± 0.2) to **R2** (3.3 ± 0.6), while no regression on time was detected for **C** animals. **CORTICO** increased just after restraint stress for 2h (0, 10 min) was significantly different, and the plasma levels regressed to naïve levels (148.8 ± 32.5) following an exponential curve. ULCERS were not observed in any experimental group. Therefore, 2h of restraint induced a mild stress. **Discussion:** The stress induced was not enough to promote ULCERS, but activated the HPA axis, according to the increase in **CORTICO** levels. This increase in adrenal hormone imposes an enhancement in nocturnal MEL surge, confirming the interaction between adrenal and pineal function. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq and FAPESP.

02.004

Cinética da expressão de BDNF e ativação de CREB no córtex pré-frontal de camundongos adultos após administração aguda de etanol. Soares, S. L.¹; Teodorov, E.¹; Trujillo, C. A.²; Teixeira, A. M. A.¹; Goeldner, F. O.³; D'Almeida, V.³; Scavone, C.¹; Camarini, R.¹ - ¹ICB-USP - Farmacologia; ²IQ-USP - Bioquímica; ³UNIFESP - Psicobiologia

O fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) é uma neurotrofina importante no desenvolvimento neuronal, sobrevivência e diferenciação neuronal. Atualmente, muitos trabalhos tem associado sua influência na dependência ao EtOH. A via dopaminérgica mesolímbico-cortical, que está envolvida no circuito da recompensa, pode sofrer mudanças duradouras por ação de drogas de abuso. O sistema AMPc-PKA-CREB regula a expressão de BDNF e tem-se demonstrado que alguns dos efeitos do etanol são parcialmente modulados por essa via, como o aumento da expressão de BDNF associada a diminuição do consumo de etanol e da sensibilização comportamental aos efeitos estimulantes do etanol. O objetivo do trabalho foi caracterizar a cinética de expressão de BDNF e a ativação do fator de transcrição CREB no Córtex Pré-Frontal de camundongos adultos após a administração aguda de 1.8 g/kg etanol através das técnicas de PCR semi-quantitativo e Ensaio de Retardamento da Mobilidade Eletroforética (Gel Shift), respectivamente. Camundongos Swiss machos adultos PND=60 dias, (n=33) foram habituados com injeções i.p. de salina 0.9% durante os dois primeiros dias do tratamento e observados em campo aberto. No terceiro dia os animais receberam injeções i.p. de salina 0.9% (controle) ou etanol (1.8g/kg), foram observados em campo aberto e sacrificados 1h (EtOH 1h), 3h (EtOH 3h), 6h (EtOH 6h), 8h (EtOH 6h) e 24h (EtOH 24h) após a injeção. A administração aguda de etanol levou ao aumento da atividade locomotora dos animais quando comparado ao grupo controle (t=2.09; p<0.05). A análise da expressão de BDNF nos grupos estudados mostrou existir significativo efeito do tratamento [F=5.5; p<0.01]. Comparações *a posteriori* mostraram aumento significativo da expressão de BDNF nos grupos EtOH 1h (0.48±0.02), EtOH 3h (0.77±0.07) e EtOH 6h (0.62±0.16) comparado ao grupo controle. Resultado semelhante foi observado em relação à ativação do CREB, sendo EtOH 1h (317±23), EtOH 3h (290±36) e EtOH 6h (231±6) maiores do que o controle. Os resultados mostraram que doses estimulantes de Etanol ativam a via de sinalização do CREB e aumentam a expressão do BDNF até 6h após a administração. Apoio Financeiro: FAPESP e CNPq

02.005

Involvement of the NMDA receptor for glutamate in the behavioral and molecular alterations induced by intracerebroventricular administration of the b-amyloid peptide in mice. Bicca, M. A.; Medeiros, R.; Figueiredo, C. P.; Prediger, R. D.; Passos, G. F.; Calixto, J. B. UFSC - Farmacologia

Introduction: Alzheimer's disease (AD) is common in the elderly and is characterized by a decrease in some intellectual functions as memory and learning (Mattson MPT, *Nature* 430:631-9(2004); Walsh DM, Selkoe DJ, *Neuron* 44:181-193(2004); Buckner RL, *Neuron* 44:195-208(2004). In such disease it is observed a high degree of phosphorylation of the tau microtubuline (Sisodia SS, Price DL, *FASEB J* 5:366-70(1995) and an accumulation of the b-amyloid protein (Ab) in amyloid plaques, the latter being able to reduce the expression and/or activation of the NMDA receptor (Wang Q, et al., *J Neurosci* 24:6049-6056(2004); Snyder EM, et al., *Nat Neurosci* 8:1051-8(2005). Nowadays there aren't drugs able to revert or prevent the progression of AD. The aim of the present study was to analyze the role of the NMDA receptor for glutamate in an experimental model of AD in mice. **Methods:** The NMDA receptor antagonist (LY235959) was given i.p. 30 minutes before the i.c.v injection of the b-amyloid peptide (Ab1-40). After 7 days animals were subjected to behavioral studies in the water Morris maze in order to evaluate the ability of memory acquisition (train sections, with platform) and retention (test section, 1st day after train, without platform) or were sacrificed and brains were collected to evaluate some biochemical and molecular parameters. **Results:** The Ab1-40 administration in mice resulted in a decrease of cognitive function while the pre-treatment with LY235959 prevented such injury when compared to control group. The open-field test (crossings and rearings) demonstrated that the animals motor activity was not modified. Immunohistochemical assays demonstrated that the level of synaptophysin protein were decreased in the subregions CA1, CA2, CA3 e DG 8 days after the treatment with Ab1-40 when compared to control group. **Discussion:** Several evidences suggest that alterations in the glutamatergic pathways are responsible for the disturbances observed during the progression of the disease. In fact, the present study has showed that the treatment with LY235959 was able to reduce cognitive injury induced by the administration of Ab1-40 in mice. Confirming previous data (Medeiros et al., *J Neurosci* 27:5394-5404 (2007) our study demonstrated the loss of synaptic viability due to a reduction of synaptophysin protein in brains of mice treated with Ab1-40. Together, data from this study suggest that signaling pathways activated by NMDA receptor seem to have a key role in the cognitive injury observed in Alzheimer's disease (AD). Apoio Financeiro: CNPq, PIBIC, FAPESC

02.006
PRÊMIO INOVAÇÃO

02.007

Administração aguda de cocaína causa aumento na atividade da Na,K-ATPase em cérebros de ratos. Getschko, L.; Sá Lima, L.; Scavone, C.; Lepsch, B. L. - ICB-USP - Farmacologia

Introdução: A cocaína é uma droga de abuso cada vez mais utilizada e cujo estudo é de grande importância uma vez que ela causa danos no SNC. Ela age bloqueando os transportadores de recaptção de dopamina, serotonina e noradrenalina, aumentando a concentração destes neurotransmissores na fenda sináptica. Evidências apontam para a participação destes neurotransmissores na regulação da enzima Na,K-ATPase, porém a modulação desta enzima pela cocaína ainda é pouco conhecida. Sabe-se que a enzima Na,K-ATPase está associada a processos fundamentais para o metabolismo celular, incluindo transporte iônico, controle de volume celular e excitabilidade. Nesse trabalho o nosso objetivo foi estudar as modificações na Na,K-ATPase após administração aguda de cocaína em ratos.

Métodos: Ratos Wistar receberam doses de 30mg/kg de cocaína por via intraperitoneal. O grupo controle recebeu injeções de solução salina. Após 30 min ou 2 horas da injeção os ratos foram decapitados e as seguintes estruturas cerebrais retiradas: estriado, núcleo acumbens, córtex frontal e cerebelo. As amostras de tecido foram homogeneizadas e utilizadas para medir a atividade da enzima Na,K-ATPase através da quantificação do fosfato (Pi) livre provenientes da hidrólise de ATP após complexo com molibdato de amônio formando um cromóforo cuja absorvância é determinada pela leitura em comprimento de onda 700 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem em relação ao controle (controle=100%). Para análise estatística foi utilizado ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls – $P < 0.05$. **Resultados:** Em todos os tecidos foi encontrada uma tendência de aumento na atividade da Na,K-ATPase após administração de cocaína (30min ou 2horas) em relação ao controle. No córtex frontal a atividade da Na,K-ATPase aumentou após 30 min (129,87%;n=4) porém após 2 horas este aumento não foi mais observado (96,79%;n=4). No núcleo acumbens foi observada uma tendência ao aumento na atividade da enzima, porém esse aumento não foi significativo (30min:125,64% e 2horas:124,15%;n=4). No estriado a atividade da Na,K-ATPase teve seu valor acrescido tanto após o período de 30 min quanto após 2 horas (30min:144,609% e 2horas:155,882;n=9). No cerebelo apenas encontramos aumento significativo no grupo decapitado após 2 horas (30 min:106,347% e 2 horas:113,113%;n=4). **Discussão:** Nossos resultados mostram que a administração aguda de 30 mg/kg de cocaína causou um aumento da atividade da Na,K-ATPase. Como a dopamina atua diminuindo a atividade dessa enzima, nossos resultados indicam que outros neurotransmissores, como a noradrenalina, serotonina, ou o glutamato, podem estar mediando esta ação da cocaína. Estes dados podem contribuir para a compreensão de mecanismos celulares relacionados a ação neurotóxica dessa droga. Financiadoras: FAPESP, CNPq

02.008

Interference of ethanol and methylmercury in rats in the elevated T-maze. Maia, C. S. F.; Lucena, G. M. R.; Diniz, J. S. V.; Matos, R. W. M.; Menezes, F. C.; Santos, S. N.; Ferreira, V. M. M. – ¹FCS-UnB - Ciências Farmacêuticas

Introduction: The Fetal Alcohol Syndrome (FAS) is the more significant alteration caused for Ethanol (EtOH) intoxication. Methylmercury (MeHg) is a highly neurotoxic compound leading to neurological and developmental deficits in animals and human beings. The interaction between both neurotoxics keeps unclear. This study aimed to investigate the modulation of anxiety and memory in the elevated T-maze (ETM), in rats 60th postnatal days after in utero and lactation exposure to EtOH and MeHg. **Methods:** Pregnant female rats (Wistar) were divided into two groups, to receive tap water or EtOH 22.5% w/v (6.5 g/kg per day, oral (p.o.) route) for 21 days and subjected to 21 more days of breast-feeding. On the 15th days' pregnancy, each group was subdivided into two more groups to received tap water or 8 mg/kg of MeHg (p.o.), in order to have four kinds of treatment: Control (C), EtOH, MeHg, EtOH+MeHg. All the behavioral experiments were made using adult offspring, with 2 months old, n=10 animals per treatment. The behavioral experiments were the open field test (baseline, 24 hours and 7 days) and elevated T-maze (ETM) (baseline, 24 hours and 7 days). **Results:** Experimental results showed that the animals from EtOH+MeHg group, increased the basis activity and after 24 h in the open field test. In the ETM test, one-way ANOVA showed in the EtOH+MeHg group a significant decrease of the latency in the avoidance 1 (F =17,44; p<0,05), and the escape latency (F = 12,68; p<0,05) in the 24 hours test and in the 24 hours retest. These results were also observed in the 7 days retest. When compared to *per se* groups, the EtOH+MeHg showed significant decrease of the latency in the avoidance 1 (F = 12,78; p<0,05), in the 24 hours retest (F = 6,422; p<0,05), and the risk of assessment in avoidance 1 (p<0,05), and in the avoidance 2 (p<0,05) when compared to EtOH group. **Discussion:** This present study demonstrated that the prenatal exposure to EtOH and/or MeHg has a large impact in the memory and anxiety behavior in rats in the ETM test. However, this interaction deserves further studies. **Acknowledgements:** Experimental Surgery Laboratory (Faculty of Medicine, University of Brasília) for the support and technical assistances.

02.009

Nicotine effects in the LPS-induced NFKB activation in cerebellum and hippocampus. Café-Mendes, C. C.¹; Hirata, L. M.²; Hatanaka, E.³; Malta, M. B.⁴; Garay-Malpartida, H. M.⁵; Scavone, C.⁴; Markus, R. P.⁶; Marcourakis, T.² – ¹FMUSP - Fisiopatologia Experimental; ²FCF-USP - Análises Clínicas e Toxicológicas; ³ICB-USP - Fisiologia; ⁴ICB-USP - Farmacologia; ⁵IQ-USP - Bioquímica; ⁶IB-USP - Fisiologia

Introduction: Nicotine is an alkaloid extracted from Tobacco plants and acts as an agonist of neurons and other cells that have nicotinic receptors. This substance is capable of crossing the blood brain barrier and mimics endogenous acetylcholine interacting with various receptor subtypes. Many studies have shown that *in vitro* and also some *in vivo* chronic exposure to nicotine inhibits the immunological system; however, the mechanisms underlying these events are still unknown. Once the transcription factor NFKB regulates the gene expression related to different events in the CNS like plasticity, neuronal development and inflammation, our aim was to evaluate the activation pattern of LPS-induced NFKB in response to chronic nicotine treatment. **Methods:** Male Wistar rats were treated with nicotine (s.c.) for 14 days, challenged with LPS in the 15th day, and after 2h were decapitated. The hippocampus and cerebellum were extracted and the blood was collected for plasma cytokines dosage. To confirm that the observed effects were on nicotinic receptors, they were blocked with the nicotinic receptor antagonist mecamylamine (1.0 mg/kg s.c.). Control group received saline 0.9% (s.c.). NFKB activity was analyzed by Gel shift assay, and the mRNA expression of TNF- α and IL-1 β were evaluated by Real time PCR. **Results:** The experimental groups nicotine 1.0 and 0.1 mg/kg/LPS showed a reduced activity of NFKB in hippocampus and cerebellum in comparison to Saline/LPS animals ($p < 0.05$). Mecamylamine treatment did not alter nicotine response in hippocampus but did in cerebellum ($p < 0.05$). Real-time PCR analysis demonstrated that, in hippocampus, nicotine 0.1 mg/kg interfered in the TNF- α mRNA expression. Plasma cytokines of the nicotine 1.0 mg/kg/LPS group showed increased levels of TNF- α in comparison to saline/saline and to saline/LPS group ($p < 0.001$) what may be related to the stress caused by this high dose. The cytokines evaluated in the other treatments did not indicate a significant influence of nicotine over their production in the peripheral system. **Discussion:** Nicotine prevents LPS effects, both in cerebellum and hippocampus, once it reduced significantly the nuclear translocation of NFKB. The antagonist mecamylamine does not interfere in nicotine response in hippocampus but does in Cerebellum suggesting that this alkaloid may act through different nicotinic receptors subtypes in response to chronic nicotine exposure. In hippocampus, nicotine also inhibited the transcription of TNF- α mRNA. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq/CAPES

02.010

Participação dos receptores B₁ e B₂ para as cininas na hiperatividade da bexiga urinária induzida pela lesão medular em ratos. Forner, S.¹; Andrade, E. L.¹; Koepp, J.²; Medeiros, R.¹; Calixto, J. B.¹ ¹UFSC - Farmacologia; ²Instituto Heliópolis, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint Etienne - Farmacologia

Objetivos: A hiperatividade da bexiga urinária, a qual pode ser decorrente de uma lesão da medula espinhal, é uma patologia caracterizada pela presença de contrações involuntárias do músculo detrusor da bexiga durante a fase de enchimento. O presente estudo visa avaliar o envolvimento dos receptores B₁ e B₂ para as cininas na hiperatividade da bexiga urinária induzida pela lesão medular traumática. **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar machos (270 - 300g) anestesiados e mantidos sob temperatura constante, foram submetidos à lesão da medula espinhal por compressão ao nível da 10^o vértebra torácica através da inserção de um cateter Fogarty 2F. Para garantir a eficácia da lesão medular, foram utilizados somente animais cuja atividade locomotora não ultrapassou um escore 3 na escala BBB (escore 0 a 21). Em preparações de bexiga urinária de animais falso-operados, a adição do agonista de receptores B₂ (bradicinina 0,0001-10 µM), mas não de receptores B₁ (des-Arg⁹-BK 0,0001-10 µM) induziu uma resposta contrátil dependente da concentração, similar aquela observada em animais naive e independente do tempo após a cirurgia. Na maior concentração utilizada, as respostas contráteis à BK em preparações de animais naive ou falso-operados foram 1,9±0,3 ou 2,4±0,3g de tensão, respectivamente. Interessantemente, quando comparado a animais falso-operado, a lesão medular induziu um aumento significativo na frequência e na amplitude da atividade contrátil basal da bexiga urinária, potencializou a resposta contrátil à bradicinina (dia 2: 3,0 ±0,3; dia 7: 3,3 ± 0,3; dia 14: 4,3± 0,7; dia 28: 1,9 ± 0,3 g), desmascarou um efeito contrátil à des-Arg⁹-BK (dia 2: 2,1± 0,4; dia 7: 1,3± 0,2; dia 14: 1,5± 0,1; dia 28: 0,2± 0,1g) (P<0.05) e induziu um aumento significativo na expressão dos receptores B₁ e B₂ (se você tiver os valores coloque, ok). Em adição, em amostras de bexiga urinária coletadas 28 dias após a lesão medular, a incubação prévia destas preparações com os antagonistas de receptores B₂ (Hoe-140 30 nM) ou B₁(des-Arg-Leu⁸-BK 30 µM) foi capaz de inibir em 35,5±12,3% e 100% a resposta contrátil induzida pela bradicinina (0,0001-10 µM) ou pela des-Arg⁹-BK (0,0001-10 µM), respectivamente. **Conclusão:** Nossos resultados mostram que a lesão medular altera a atividade basal da bexiga urinária, potencializa o efeito contrátil à bradicinina, desencadeia um efeito contrátil à des-Arg⁹-BK e aumenta a expressão dos receptores B₁ e B₂. O envolvimento de receptores B₁ e B₂ na hiperatividade da bexiga urinária induzida por lesão medular sugere um novo alvo terapêutico para esta patologia. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FINEP, FAPESC, PRONEX

02.011

The fade induced by pancuronium or cisatracurium does not depend only on the blockade of nicotinic receptors on the motor nerve terminal. Bornia, E. C. S.¹; Pereira, M. W.¹; Ambiel, C. R.²; Alves-do-Prado, W.¹ ¹UEM - Farmácia e Farmacologia; ²UEM - Ciências Morfofisiológicas

Introduction: The release of ACh from the motor nerve terminal can be regulated by Nn, M₁ (positive auto-modulation) and M₂ (negative auto-modulation) pre-synaptic cholinergic receptors. Although pancuronium (Panc) and cisatracurium (Cisatrac) are clinically used to block the muscular nicotinic receptors (Nm), it has not been investigated whether other activities (antimuscarinic and anticholinesterasic) of these molecules could influence the fade of transmission induced by such agents. In this work were investigated the effects of the blockade of pre-synaptic M₁ (pirenzepine-Pzp) and M₂ (methoctramine-Methoc) receptors on the fade induced by Panc and Cisatrac. The data obtained from studies performed with such associations of drugs were compared with those obtained with administration of d-tubocurarine (d-Tc) and hexamethonium (Hex). **Methods:** The phrenic nerve-diaphragm muscle preparations of rats were assembled according to Büllbring (1946). The muscle was indirectly stimulated with tetanizing pulses at 15-min intervals. The tension (B) recorded at the end of the tetanus (after 10 sec) was taken as a ratio (R) of that (A) obtained at the beginning (R=B/A). The frequency capable of producing R=1.0 was determined. The smaller concentrations of each blocker capable of producing a 25% reduction in R value, 16 min after its administration, were searched. The R values obtained in the presence of drugs were taken as percentages of those obtained in the absence of drugs. In studies with combinations of drugs, Pzp or Methoc were given 15 min before the addition of the blockers into the bath. Data were compared with ANOVA followed by Bonferroni test (P <0.05). **Results:** Pzp (1 µM) alone, or in combination with d-Tc (55 nM, R= 28.6±2.5%, n=6) or Hex (413 µM, R= 29.0±3.9%, n=6), did not modify the values of R. In contrast, the fade induced by Panc (0.32 µM, R= 20.55±3.11%, n=5) or Cisatrac (0.32 µM, R= 24.7±0.89 %, n=6) was mitigated by Pzp (R= 8.4±3.9%, n=6; R= 12.52±2.47%, n=6). Methoc (1 µM) alone did not change the values of R, but it mitigated the fade produced by d-Tc (R=5.9±7.1%, n=5), Hex (R= 14.9±2.85%, n=5), Panc (R= 4.22±2.7%, n=5) and Cisatrac (R= 11.02±3.34%, n=5). **Conclusions-** The fade induced by Hex, d-Tc, Panc, or Cisatrac is determined by the blockade of the Nn receptors, and activation, by ACh, of the M₂ receptors on the motor nerve terminal. In addition, the fade induced by Panc and Cisatrac would depend also on the activation, by ACh, of the M₁ receptors. Thus, properties (anticholinesterasic) of the molecules of Panc and Cisatrac, other than the blockade of nicotinic receptors, have to be taken into account during the clinical use of such neuromuscular relaxants.

02.012
PRÊMIO INOVAÇÃO

02.013

Bed nucleus of the *stria terminalis* α_1 -adrenoceptor modulates the cardiovascular responses to acute restraint stress in rats. Crestani, C. C.; Alves, F. H. F.; Tavares, R. F.; Correa, F. M. A. FMRP-USP - Farmacologia

Introduction: Previous results of our laboratory demonstrated that bilateral microinjection of the nonspecific synaptic blocker CoCl_2 into the bed nucleus of the stria terminalis (BST) heightened the heart rate (HR) increase associated with acute restraint without affect the stress-related blood pressure increase, suggesting an inhibitory influence of BST synapses on the restraint-evoked HR changes. However, the local neurochemical system involved in the BST inhibitory influence on the HR responses to restraint stress was not elucidated. Thus, the aim of the present work was to study the participation of BST noradrenergic neurotransmission on the cardiovascular responses observed during acute restraint stress. **Methods:** Male Wistar rats had guide cannulas bilaterally implanted in the BST for drugs injection. Polyethylene catheter was implanted in the femoral artery for mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) recording using a computerized acquisition system. The restraint stress was realized putting the animals in a small plastic cylindrical restraining tube (diameter= 6.5 cm and length=15 cm) during 60 minutes. For study the participation of BST noradrenergic neurotransmission on the cardiovascular responses to acute restraint stress adrenoceptor antagonists were microinjected in the BST 10 minutes before the animals be submitted to acute restraint. Two-way ANOVA (time vs treatment) was used to compare time curves of MAP (DMAP) and HR (DHR) changes. **Results:** Acute restraint caused significant increases on the MAP (91 ± 4 vs 105 ± 6 mmHg, $t=3$, $p < 0.05$) and HR (341 ± 11 vs 408 ± 12 bpm, $t=5$, $p < 0.005$). Administration of vehicle (100nL, $n=6$) into the BST did not affect the changes on the MAP ($F_{(1,60)}=0.2$, $p > 0.05$) or HR ($F_{(1,60)}=0.1$, $p > 0.05$) to acute restraint, when compared with untreated animals. Microinjection of the selective α_1 -adrenoceptor antagonist WB4101 (15nmol/100nL, $n=6$) into the BST enhanced restraint-evoked HR increase ($F_{(1,60)}=99$, $p < 0.0001$) without significant effect on the MAP response ($F_{(1,60)}= 3$, $p > 0.05$), when compared with vehicle-treated animals. BST pretreatment with the selective α_2 -adrenoceptor antagonist RX821002 (15nmol/100nL, $n=5$) did not affect the restraint-evoked MAP ($F_{(1,54)}= 2$, $p > 0.05$) and HR ($F_{(1,54)}= 3$, $p > 0.05$) increases. Microinjection of the non-selective β -adrenoceptor antagonist propranolol (15nmol/100nL, $n=5$) into the BST also did not affect the restraint-evoked MAP ($F_{(1,54)}=1$, $p > 0.05$) and HR ($F_{(1,54)}=0.3$, $p > 0.05$) increases. **Conclusion:** Our results suggest that local noradrenergic neurotransmission through α_1 -adrenoceptor mediate the BST inhibitory influence on the restraint-evoked HR increase. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq and FAEPA.

02.014

Cocaine induces cell death and activates the transcription factor kappa-B in PC 12 cells. Lepsch, B. L.¹; Munhoz, C. D.¹; Kawamoto, E. M.¹; Sá Lima, L.¹; Cury-Boaventura, M. F.²; De Lima, T. M.³; Planeta, C. S.⁵; Scavone, C.¹ ¹ICB-USP - Farmacologia; ²ICB - Fisiologia e Biofísica; ³FCFAR-UNESP - Princípios Ativos Naturais e Toxicologia

Introduction: Cocaine is a drug excessively used and its abuse is associated with physical, psychiatric and social problems. The mechanism by which cocaine causes neurological damages is very complex and involves interactions of the drug with several neurotransmitter systems, such as increase of extracellular levels of dopamine and free radicals and modulation of transcription factors. NF-kB is a transcription factor which regulates genes involved in cellular death. Our aim was to investigate the toxicity and modulation of NF-kB by cocaine in PC 12 cells. **Methods:** PC 12 cells were incubated with 1mM of cocaine for 6 or 24 hours. Cell death was measured by flow cytometric (FACS), MTT and Lactate dehydrogenase activity (LDH) assays. Apoptose was confirmed by RT-PCR and western blot of Bcl-2 and caspase 3. Caspase 3 activity was also performed. After the nuclear fraction extraction, cells were analyzed by EMSA assay to verify NF-kB activity. Pretreatment with SCH23390 (10, 50, 100 mM), Sodium salicylate (2 mM) and PDTC (10 mM) were done 20 minutes before cocaine incubation (1 mM, 6h). The results are expressed as percentage of control (control = 100%) of three independent experiments. Statistic comparisons were performed by ANOVA-Newman-Keuls test – P<0.05. **Results:** We observed fragmentation of DNA, cell membrane rupture and mitochondrial activity reduction after 24 hours of treatment with cocaine (coc). A decrease in the expression of Bcl-2(86%), decrease in the levels of RNAm Bcl-2 (58%) and increase in caspase 3 activity (183%) and caspase 3 cleavage (129%) was also observed after 6 and 24 hours of treatment. After 6 hours of incubation, cocaine activated the p50/p65 subunit of NF-kB (control = 9620; coc= 102242 arbitrary unit) and the pretreatment of the cells with SCH 23390, a D1 receptor antagonist, attenuated the NF-kB activity (coc = 258.5%; coc+SCH = 173%). The inhibition of NF-kB activity with PDTC and Sodium Salicylate increased cellular death induced by cocaine (coc= 80%; coc+sodium salic = 68.96%; coc+PDTC = 64%). **Discussion:** Cocaine induces cell death (apoptosis and necrosis) and activation of NF-kB in PC 12 cells. This activation is, at least partially, due to activation of D1 receptors and seems to have a protective role in these cells. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq and CAPES.

02.015

Influência do exercício físico na evocação da memória de longa duração e na proteção aos danos oxidativos hipocampais em ratos com déficit de aprendizagem. Albuquerque, M. S.¹; Baraldi, T.¹; Silva, A. A.¹; Gesseff, A.¹; De Angelis, K.²; Buck, H. S.³; Viel, T. A.¹ ¹USP-EACH; ²InCor - Hipertensão; ³FCMSCSP - Ciências Fisiológicas

Introdução: O exercício físico promove mudanças bioquímicas e fisiológicas no organismo, dependendo do seu tipo, intensidade, duração e frequência. O exercício crônico e moderado estimula o sistema antioxidante na defesa do organismo contra as espécies reativas ao metabolismo de oxigênio (ERMOs). Essas ERMOs põem em risco a integridade das membranas, podendo prejudicar a transmissão das informações e a consolidação das memórias. O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência do exercício físico na evocação da memória e na estabilidade celular hipocampal de ratos com déficit de aprendizagem (não-responsivos à esquiwa ativa). **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar (300-470 g) foram submetidos à esquiwa ativa de duas vias (50 provas), onde foi avaliado o número de respostas condicionadas (RC). Dessa forma, foram separados em responsivos (n = 12) e não-responsivos (n = 19) à tarefa. Em seguida, metade dos animais de cada grupo passou por um protocolo de treinamento físico moderado em esteira ergométrica, 1 hora por dia, 5 dias por semana, durante 11 semanas. A outra metade permaneceu sedentária. Após esse período, os animais treinados apresentaram redução significativa da pressão arterial (14%, $P < 0,05$), aferida por via indireta, relativamente à dos sedentários ($89,3 \pm 1,0$ mmHg). Ao fim do período de treinamento, os animais foram submetidos novamente ao equipamento de esquiwa ativa. Os ratos treinados, responsivos e não-responsivos, apresentaram aumento na porcentagem das RC de 60 e 195 %, respectivamente, em relação àquelas obtidas antes do treinamento físico ($26,7 \pm 4,6\%$ e $4,2 \pm 1,0\%$, $p < 0,05$). Após as observações comportamentais, os animais foram anestesiados e os cérebros foram extraídos e congelados. Os hipocampus de 4 animais treinados e 4 sedentários foram isolados e submetidos à lipoperoxidação de membrana com concentrações crescentes de Fe^{3+} (10 a 1000 microM). O produto dessa reação, malondialdeído, após reagir com ácido tiobarbitúrico formou um cromóforo rosa, cuja absorbância foi quantificada em espectrofotômetro (532 nm). Não houve alteração significativa da CE_{50} obtida das curvas de Fe^{3+} dos animais treinados, comparativamente aos animais sedentários ($8,5 \times 10^{-5}M$; IC: $5,3 \times 10^{-5}M$ a $1,4 \times 10^{-4}M$). **Conclusão:** O exercício físico melhorou a evocação da memória de longa duração de animais com déficit de aprendizagem. Essa melhora não foi relacionada a alterações na estabilidade da membrana celular de neurônios hipocampais frente à ação do Fe^{3+} como agente oxidante. Apoio Financeiro: PIBIC/CNPq/USP; COSEAS/USP; CAPES-MES

02.016

Envolvimento da bradicinina na aprendizagem e evocação de memória de curta duração em ratos. Amaral, F.A.¹; Lemos M. T. R.¹; Dong K. E.¹; Bittencourt, M. F. Q. P.¹; Caetano, A. L.¹; Buck, H. S.¹; Viel, T. A.² ¹FCMSCSP - Ciências Fisiológicas; ²USP-EACH

Introdução: Os efeitos das cininas são mediados através da ativação dos receptores B1 e B2, que são acoplados à proteína G. O receptor B2 esta presente na maioria dos tecidos e o receptor B1 geralmente não é expresso em tecidos normais. Nosso grupo observou uma evidente neurodegeneração nas áreas corticais e hipocampais associada à depósitos de beta amilóide, aumento da concentração de BK no fluido cerebrospinal e da densidade de sítios de ligação para receptores B1 e B2 em áreas relacionadas aos processos cognitivos. A ativação destes receptores pelos seus agonistas pode estimular a secreção da proteína precursora amilóide, assim como estimular neurônios sensoriais primários, evocando a liberação de substância P (SP). A aplicação de SP na região dos núcleos basais magnocelulares promoveu uma melhora na memória dos animais utilizados. Por outro lado, foi observada a hiperfosforilação da proteína Tau e diminuição do aprendizado e memória em ratos, sete dias após a microinjeção de uma única dose de BK no hipocampo de ratos. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o envolvimento da Bk na aprendizagem e evocação de memória de curta duração. **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar machos (3 meses) foram anestesiados e receberam o implante de duas cânulas-guias, posicionadas sobre o hipocampo. Após 5 dias, os animais foram injetados bilateralmente com 1 µL de salina ou Bk (300 pmol) e submetidos ao teste de atividade motora por 5 min seguido de treino em esquiava inibitória (0,5 mA, 2 seg, máximo de 300 seg) (grupo salina, n = 6 e Bk pré-treino, n = 7), ou injetados logo após o treino (Bk pós-treino, n = 7). Os animais dos grupos salina e Bk pós-treino apresentaram aumento significativo da latência ao choque (31 seg [20,300] e 24 seg [12,76], respectivamente, p<0,05) 90 min após o treino (20 seg [12,42] e 11 seg [7,19], respectivamente). Por outro lado, os animais do grupo Bk pré-treino não apresentaram aumento significativo da latência ao choque no teste de 90 min (36 seg [19,161]), comparativamente ao treino (15 seg [13,29]). Esse comportamento não se deveu a alterações na atividade motora, pois não houve diferença entre os grupos. **Conclusões:** A Bk aplicada no hipocampo aparentemente prejudicou os processos de aprendizagem dos animais, mas não interferiu na consolidação da memória de curta duração. Considerando que a Bk é liberada durante lesões teciduais, este peptídeo pode estar associado a déficits de aprendizado após lesões neurológicas ou estresse pós-traumático. Esses resultados demandam mais estudos farmacológicos e moleculares para esclarecer essas observações. Apoio Financeiro: Apoio financeiro: FAPESP, CNPq, CAPES, FAP-FCM.

02.017
PRÊMIO INOVAÇÃO

02.018
PRÊMIO INOVAÇÃO

02.019
PRÊMIO INOVAÇÃO

02.020

Estudo farmacológico dos efeitos ansiolíticos e antidepressivos da fração α - e β -amirina isolada de *Senna spectabilis*. Souza, B. R.¹; Freitas, R. M. de² ¹FCRS - Farmacologia e Fisiologia; ²UFPI - Farmacologia

Objetivos: O objetivo do presente trabalho foi investigar os efeitos ansiolíticos e antidepressivos produzidos pela fração α - e β -amirina (AMI), isolada das folhas de *Senna spectabilis* (Fabaceae), popularmente conhecida como canafístula. Prévios trabalhos sugerem atividades antiinflamatória, analgésica, laxativa, antimicrobiana e gastroprotetora da planta em estudo. **Métodos:** Camundongos Swiss machos (25-30g) foram usados nos experimentos. Todos os animais foram tratados por via intraperitoneal com salina 0.9% (grupo controle), α - e β -amirina (3 e 15 mg/kg, n=8, AMI), flumazenil (2,5 mg/kg, n=8, FLU), diazepam (1mg/kg, n=8, DZP), fenobarbital (40mg/kg, n=8, FEN), imipramina (10 mg/kg, n=8, IMI), paroxetina (6 mg/kg, n=8, PAR) e reserpina (3 mg/kg, n=8, RES). Para verificar a atividade exploratória dos animais foi usado o teste do campo aberto. Os efeitos foram estudados pelos testes de campo aberto, nado forçado e sono induzido por fenobarbital em camundongos. Para análise estatística dos resultados foi usada a ANOVA, seguida do teste t-Student como post hoc. Os resultados foram considerados significativos quando $p < 0,05$. **Resultados e Discussão:** A administração de AMI (15 mg/kg, i.p., n=8) produziu um decréscimo significativo nos números de *crossing*, *grooming* e *rearing* ($p < 0,05$). No teste de campo aberto todos os efeitos produzidos por AMI foram revertidos pelo pré-tratamento com FLU, da mesma forma que reverteu os efeitos produzidos pelo DZP. Os resultados sugerem que AMI pode atuar por mecanismos semelhantes às drogas benzodiazepínicas, uma vez que mostrou efeito semelhante ao DZP que foram revertidas pelo FLU. No teste do sono induzido por FEN, a AMI aumentou a duração do tempo do sono em 45% ($p < 0,05$), potencializando as ações do fenobarbital através de interações com receptor GABA_A. AMI (15 mg/kg) mostrou efeito sedativo no teste de campo aberto, portanto foi usada uma baixa dose de AMI (3 mg/kg) no teste de nado forçado. Essa dose produziu um decréscimo de 27% no tempo de imobilidade. Após o pré-tratamento com IMI associado à AMI (3 mg/kg) foi visto uma diminuição semelhante, esses dados sugerem que o sistema noradrenérgico pode estar implicado com o efeito antidepressivo, uma vez que reduziu o tempo de imobilidade no teste do nado forçado, quando administrada de forma isolada e associada. Já após o pré-tratamento com PAR associado à AMI (3 mg/kg) não houve alteração da redução do tempo de imobilidade, sugerindo que o sistema serotoninérgico pode não estar envolvido no mecanismo de ação desta droga, uma vez que na associação observou-se efeito antidepressivo. Além disso, os efeitos da AMI no teste de nado forçado foram totalmente bloqueados pelo pré-tratamento com RES, essa droga produz depleção das aminas biogênicas (noradrenalina, serotonina e dopamina) que podem estar implicadas na atividade antidepressiva de AMI. **Conclusão:** As ações ansiolítica e sedativa da AMI poderiam ser explicadas pela ativação dos receptores benzodiazepínicos. O seu efeito antidepressivo pode ocorrer devido às alterações nos mecanismos noradrenérgicos cerebrais. Futuros estudos devem ser desenvolvidos na tentativa de esclarecer o mecanismo de ação fração AMI, justificando o uso clínico desta droga no tratamento da ansiedade e depressão humana. Apoio Financeiro: CNPq