

04. Farmacologia Cardiovascular e Renal

04.001

Revisiting the role of kinin B₁ receptor and the *de novo* concept. Bravo, J. C. R.¹; Farias, N. C.¹; Hilzendeger AM¹; Feres, T.¹; Paiva, M. B.²; Pesquero, J. B.¹; Paiva, T. B.¹ - ¹UNIFESP - Biofísica; ²UCLA School of Medicine - Cirurgia

Introduction: Kinins mediate their effects via kinin B₁ (KB₁R) and kinin B₂ receptors (KB₂R). In normal tissues KB₂Rs are constitutively expressed and kinin B₁ receptors (KB₁Rs) are absent, although these are expressed under inflammatory processes. The presence of KB₁R was investigated in non-responsive preparations. **Methods:** Smooth muscle cells in rabbit aortic rings were impaled by microelectrodes to measure membrane potentials (MP). The expression of KB₁R in these preparations was investigated through the effect of kinin B₁ agonists and antagonists in the MP and by KB₁R mRNA evaluation. **Results:** Hyperpolarizing responses to KB₁R stimulation were observed in 50% of recently set-up mounted aortic rings, and were inhibited by iberiotoxin, a specific inhibitor of (K⁺Ca²⁺) channels and by specific KB₁R antagonist Lys-(Leu⁸)des Arg⁹ BK. In these preparations, after 6-h stretching, a depolarizing effect caused by des-Arg⁹-BK, a KB₁R agonist, was also inhibited by a KB₁R antagonist. In non-responsive rings (50%), the presence of mRNA of this receptor was confirmed by RT-PCR. In addition, in these non-functional rings, the KB₁R was shown to be responsive when K⁺Ca²⁺ channels were activated by increasing intracellular Ca²⁺ concentration ([Ca²⁺]_i). **Discussion:** Taking into account these findings that KB₁Rs are present in 50% of recently mounted aortic rings and 50% are expressed but non-functional in smooth muscle cells from rabbit aortic rings that can be turned responsive after K⁺Ca²⁺ activation, we propose the new concept that the functionality of KB₁R might be dependent on the activation of this channel. Apoio Financeiro: Support: FAPESP, CNPq, CAPES

04.002
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.003

Identificação funcional dos grupamentos neuronais do núcleo paratrigeminal. Sousa, L. O.; Lindsey, C. J. UNIFESP - Biofísica

Objetivo: Investigações farmacológicas, neuroanatômicas e elefrofisiológicas apontam a importância do núcleo paratrigeminal (Pa5) na modulação cardiovascular. O objetivo do trabalho foi determinar qual o segmento do núcleo ou grupamento celular seja mediador dos componentes cardiorrespiratórios da resposta barorreflexa. **Métodos:** A lesão bilateral do Pa5 por microinjeções de ácido ibotênico (0,15 µg/0,15 µl ou 0,05 µl) foi realizada em ratos Wistar adultos, divididos em 9 animais com lesão total do Pa5 (Pa5_X), 9 caudal (Pa5C_X), 6 interpolar (Pa5I_X) e 6 rostral (Pa5R_X), para avaliação dos reflexos cardiorrespiratórios 4 dias após as cirurgias, foram comparados aos grupos de animais Controle (C) com craniotomia e Pa5 intacto (n = 10). Foi avaliado o índice barorreflexo (IB) médio (Δ Frequência Cardíaca/ Δ Pressão Arterial) através do efeito pressor causado pela administração endovenosa de doses crescentes de fenilefrina. **Resultados:** Em relação ao grupo C, os animais Pa5_X apresentaram: elevação da pressão arterial (PA), diminuição da frequência cardíaca (FC) e aumento da frequência respiratória (FR) de repouso (Pa5_X = 111±4 mmHg, 285±9 bpm e 104±3 FRM e C = 99±4 mmHg, 308±10 bpm e 94±5 FRM). O grupo Pa5C_X apresentou aumento na FC (327±7 bpm). Os grupos Pa5I_X e Pa5R_X apresentaram diminuição da PA (79±5 mmHg e 87±3 mmHg e respectivamente). O valor médio do IB para o grupo C foi de 2,6±0,3. Os grupos Pa5_X e Pa5C_X apresentaram diminuição do IB, com 1,5±0,2 e 2,0±0,2, respectivamente. Os grupos Pa5I_X e Pa5R_X não apresentaram diferença significativa no IB em relação ao grupo controle (2,5±0,5 e 2,3±0,5, respectivamente), (Test t de Student, p < 0,05). **Conclusões:** As alterações nos parâmetros cardiorrespiratórios avaliados nos animais com lesão total do Pa5 indicam uma disfunção ou perda da função barorreflexa e apontam o Pa5 com um dos componentes bulbares do arco barorreflexo e importante na modulação dos reflexos cardiorrespiratórios. Fica evidente a associação topográfica da função barorreflexa com a região caudal da estrutura, região que origina projeções para o núcleo do trato solitário (NTS), o centro primário de informações baroceptivas no cérebro e justificariam a mediação da função barorreflexa. A forte queda de pressão arterial nos animais com lesão da região interpolar ou rostral do núcleo sugere que a região tenha função importante no tono vascular e/ou tono simpático. Essa região origina projeções para o núcleo reticular rostroventrolateral (RVL), o principal núcleo envolvido na manutenção do tono simpático.

Apoio Financeiro: Financeiro: FAPESP, CNPq

04.004

Comparative assessment of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9, and their inhibitors, tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 in preeclampsia and gestational hypertension. Palei, A. C. T.¹; Sandrim, V. C.²; Cavalli, R. C.³; Tanus-Santos, J. E.² - ¹FCM-UNICAMP - Farmacologia; ²FMRP-USP - Farmacologia; ³FMRP-USP - Ginecologia e Obstetrícia

Introduction: Matrix Metalloproteinases (MMPs) are a Zn²⁺ endopeptidases family that breaks down the extracellular matrix macromolecules in various physiological and pathological conditions, including preeclampsia. MMPs can also modulate vascular reactivity, thus affecting endothelial dysfunction present in preeclampsia. Tissue Inhibitors of Metalloproteinases (TIMPs) are endogenous MMPs inhibitors. Our aims were to compare the circulating levels of MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 and the MMP-9/TIMP-1 and MMP-2/TIMP-2 ratios in preeclampsia and gestational hypertension with those found in normotensive pregnancies. **Methods:** We studied 83 pregnant women - 30 healthy pregnant women with uncomplicated pregnancies, 26 with gestational hypertension (blood pressure \geq 140/90 0.3 g/L in 24h) - and 30 healthy nonpregnant women in a cross-sectional study. MMP and TIMP concentrations were measured in plasma samples by zymography (7% polyacrylamide gel co-polymerized with 1% gelatin, as the substrate) and ELISA (kits from Amersham Biosciences[®]), respectively. **Results:** We found higher plasma pro-MMP-9 levels, and higher pro-MMP-9/TIMP-1 ratios in women with gestational hypertension (95%-CI: 1.031 to 2.357, and 0.012 to 0.031, respectively), but not with preeclampsia, compared with those found in normotensive pregnant women (95%-CI: 0.810 to 1.350, and 0.006 to 0.013, respectively; both $P < 0.05$). We found no significant differences in pro-MMP-2 levels ($P > 0.05$). **Discussion:** The higher net MMP-9 (but not MMP-2) activity in gestational hypertension compared with normotensive pregnancy suggests that MMP-9 plays a role in the pathophysiology of gestational hypertension. Conversely, the lack of such alterations in preeclampsia is consistent with the notion that different pathophysiological mechanisms are involved in these hypertensive disorders. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq

04.005

Desnutrição produzida pela dieta básica regional do nordeste brasileiro (DBR) altera a homeostasia do Ca^{2+} intracelular em microssomas cardíacos de ratos. Mendes, L. V. P¹; Gonzalez, S.R¹; Paixão, A. D. O.²; Castro-Chaves, C.³; Einicker-Lamas, M.⁴; Vieyra, A.⁴; Cunha, V. M. N.¹; Lara Morcillo, L. S.¹ - ¹UFRJ - Farmacologia; ²UFPE - Fisiologia e Farmacologia; ³UFPE- Fisiologia; ⁴IBCCF-UFRJ

Objetivos: Na última década, tem sido mostrado que a desnutrição durante a infância acarreta na ativação de respostas adaptativas que, na vida adulta estão relacionadas ao surgimento de doenças como a associação entre insuficiência cardíaca e hipertensão arterial. O presente trabalho visa estudar os mecanismos moleculares destas respostas através do uso de modelos de desnutrição multifatorial empregados em ratos Wistar. **Métodos e Resultados:** Foram estabelecidos dois modelos de desnutrição multifatorial: (1) ratas Wistar grávidas foram alimentadas com a dieta DBR, sendo sua prole alimentada com uma dieta controle (desnutrição intra-uterina; DBR-IU) e (2) após o desmame, ratos provenientes de mães saudáveis foram submetidos à dieta DBR por 13 semanas (desnutrição crônica; DBR-CR). Em paralelo, foram feitos grupos controles, cujos ratos se alimentavam da dieta convencional. Após 13 semanas, verificou-se que apenas os ratos DBR-CR apresentavam uma redução de seu peso corporal e peso dos ventrículos, porém o índice ventricular encontrava-se aumentado. Através de medida não invasiva, observou-se neste grupo o aumento da frequência cardíaca (14%) e, das pressões sistólica (11%), diastólica (18%) e média (22%). Já nos animais DBR-IU, foi observado um aumento apenas na frequência cardíaca (13%) e na pressão sistólica (12%). Os ventrículos foram retirados e com as frações microssomais obtidas foram realizados ensaios de acumulação de $^{45}\text{Ca}^{2+}$ e atividade ATPásica. Foi observada uma redução de 67% do acúmulo de Ca^{2+} em 2h de incubação nos ratos DBR-IU, mas nenhuma alteração foi detectada nos ratos DBR-CR. A análise da atividade da SERCA (Ca^{2+} -ATPásica do retículo sarcoplasmático) revelou um aumento de 2 vezes na atividade da enzima nos ratos DBR-CR, entretanto, nos ratos DBR-IU a atividade SERCA foi 78% menor. **Conclusões:** Estes resultados mostram que a dieta DBR promove hipertensão arterial nos animais DBR-CR, e sugere uma predisposição a esta doença nos DBR-IU. Em ambas as condições são ativadas respostas adaptativas que alteram a homeostasia intracelular de Ca^{2+} . No DBR-IU ocorre uma diminuição da atividade da SERCA que reflete, pelo menos em parte, na diminuição do conteúdo de Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático, diminuindo a sua disponibilidade durante o processo de contração. Já no DBR-CR ocorre o aumento da atividade da SERCA, como tentativa de se manter o conteúdo adequado de Ca^{2+} no retículo. Este efeito compensatório pode ser um dos fatores primordiais na doença cardíaca associada à hipertensão arterial. Apoio Financeiro: Projeto Casadinho-CNPq; PROCAD-CAPES; FAPERJ, ALV-FUJB

04.006

Participation of prostanoids on alteration of reactivity to phenylephrine in rat contralateral carotid following arterial balloon injury. Pernomian Larissa¹; Olivon, V. C.²; Olivon, V. C.²; de Oliveira AM² – ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²USP - Física e Química

Introduction: Balloon catheter injury increases maximum contraction induced by phenylephrine (Phe) in rat contralateral carotid (CL) 4 days after vascular lesion. The inhibition of cyclooxygenase (COX) decreased contralateral artery responsiveness to Phe, suggesting the participation of prostanoids in this response. **Methods:** Reactivity functional studies were conducted in common carotid arteries isolated from control adult male Wistar rats (CO), as well as in CL carotid arteries from rats underwent to the balloon injury, 4 days after vascular lesion. Phe-induced contraction was studied in presence and absence of endothelium by cumulative concentration-response curves (10^{-10} – 10^{-5} mol/L). Phe-induced relaxation was studied in presence of endothelium by cumulative concentration-response curves (10^{-15} – 10^{-10} mol/L), over pre-contraction with prostaglandin F₂ alpha (10^{-5} mol/L). The participation of prostanoids on arterial responses to Phe was assessed by the addition of indomethacin (non-selective COX inhibitor, 10^{-5} mol/L, 30 minutes), SC560 (selective inhibitor of COX-1, 10^{-9} mol/L, 30 minutes) or SC236 (selective inhibitor of COX-2, 10^{-10} mol/L, 30 minutes) on concentration-response curves for Phe. Morphological analysis was assessed by hematoxylin-eosin staining. **Results:** Phe-induced maximum contraction was increased after balloon injury in endothelium-intact CL ($0,61 \pm 0,06$ g) when compared to endothelium-intact CO ($0,39 \pm 0,02$ g), but decreased in ipsilateral arteries (IP, $0,25 \pm 0,01$ g). The removal of endothelium increased Phe-induced maximum contraction in CO ($0,58 \pm 0,02$ g), but reduced this response in CL ($0,40 \pm 0,03$ g). SC-236 did not altered Phe-induced maximum contraction of CO ($0,36 \pm 0,02$ g), but reduced this parameter in CL ($0,40 \pm 0,03$ g). Phe-induced relaxation was abolished in endothelium-intact CL ($1,48 \pm 1,27\%$) when compared to endothelium-intact CO ($39,13 \pm 3,29\%$). The removal of endothelium abolished the Phe-induced relaxation in CO ($3,54 \pm 1,67\%$), but did not altered the response in CL ($4,97 \pm 1,32\%$). In presence of indomethacin or SC236, Phe-induced relaxation in CO was not altered ($42,31 \pm 3,89\%$ or $42,57 \pm 3,48\%$, respectively) in relation to the absence of the inhibitors, but in CL, the relaxation was normalized ($38,67 \pm 2,21\%$ or $41,23 \pm 2,99\%$, respectively). There was not morphological difference between CO and CL, but in IP, the endothelium was removed. **Conclusions:** Balloon catheter injury produced an increase in Phe-induced contraction and abolished Phe-induced relaxation in CL arteries 4 days after vascular lesion. Endothelium and cyclooxygenase-2 derived prostanoids seems to be responsible for the hyper-reactivity to Phe-induced contraction and abolition of Phe-induced relaxation in CL arteries. Apoio Financeiro: CAPES and CNPq

04.007
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.008

PI3-K delta isoform up-regulates L-Type $Ca_{2,1}$ currents and increases contractility in streptozotocin-induced diabetic mice aorta. Pinho, J. F.¹; Medeiros, M. A. A.²; Rezende, B. A.³; Côrtes, S. F.³; Andrade, S. P.¹; Campos, P. P.¹; Cruz, J. S.⁴; Lemos, V. S.¹ - ¹UFMG - Fisiologia e Biofísica; ²LTF-UFPB; ³UFMG - Farmacologia; ⁴UFMG - Bioquímica e Imunologia

Introduction: Diabetes is usually associated with long-term damage, dysfunction, and failure of various organs, including blood vessels. The mechanism underlying vascular damage associated with diabetes remains far from being well understood. The aim of this work was to investigate the mechanisms underlying vascular dysfunction in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice. **Method:** 3 weeks old C57BL/6 mice received an i.p. injection of STZ (120 mg/kg) or vehicle (citrate buffer). Ten weeks later, the thoracic aorta was isolated, cut in rings and mounted in a myograph. Muscle tension was measured using isometric transducers. The whole-cell patch-clamp technique was used to measure currents through high voltage activated Ca^{2+} channels in freshly dissociated aortic smooth muscle cells. **Results:** Plasma glucose level in STZ-treated mice (450 ± 50 mg.dL⁻¹) was higher than in control group (100 ± 30 mg.dL⁻¹; $p < 0.001$). Contractile responses to phenylephrine in endothelium-containing vessels were strongly enhanced in diabetic mice. In endothelium-denuded aortas, responses to phenylephrine remained augmented in diabetic mice suggesting that endothelium-dependent vasoconstrictors did not mediate this increased response. Accordingly, indomethacin, ibuprofen and bosentan did not restore contractile response in diabetic mice and contractile responses to KCl were also much higher in diabetic mice. Histological analysis did not show any modification on the structures of these vessels. Our patch clamp experiments showed that the magnitude of Ca^{2+} currents through L-type $Ca_{2,1}$ channels (I_{Ca}) were increased in aorta smooth muscle cells from diabetic mice. This increase was restored by the PI3K inhibitors LY204002 (20 μ M) and Wortmanin (0.3 μ M) and by selective inhibition of PI3K delta isoform IC87114 (10 μ M). LY204002, Wortmanin, IC87114 and nifedipine also decreased contractile response in the aorta from diabetic mice but did not restore the response to control levels. Association of LY204002 or Wortmanin with the Rho/Rho kinase inhibitor fasudil (10 μ M) brought the contraction of diabetic mouse aorta to control levels. Inhibition of Protein Kinase C with Calphostin C (10 μ M) did not modify contraction in control and diabetic animals. **Conclusion:** It is concluded that the mouse aorta of STZ-induced diabetes show an increased contractility. Our functional and histological studies together with the patch-clamp technique support the hypothesis that this increase is due in part to PI3-K delta increases in Ca^{2+} currents through L-type $Ca_{2,1}$ channels and to an additional mechanism involving PI3K/Rho-Rho kinase possibly modifying myosin light chain phosphorylation in smooth muscle cells. Apoio Financeiro: CNPq e CAPES.

04.009
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.010

Alterações metabólicas e papel da nNOS e do H_2O_2 na disfunção endotelial induzida pelo consumo de dieta rica em gordura e açúcar em camundongos jovens. Capettini, L. S. A.¹; Alves, M. N. M.¹; Guatimosim, S.¹; Côrtes, S. F.²; Lemos, V. S.¹ - ¹ICB-UFMG - Fisiologia e Biofísica; ²ICB-UFMG - Farmacologia

Introdução e objetivos. O consumo excessivo de gorduras saturadas e açúcares simples na infância tem forte correlação com alterações morfofuncionais nos vasos sanguíneos. Estas disfunções vasculares se traduzem por modificações na funcionalidade do vaso, além de se associarem diretamente ao desenvolvimento da aterosclerose e hipertensão arterial. Trabalhos recentes sugerem a participação da óxido nítrico-sintase neuronal (nNOS) em disfunções vasculares. Além disso, há fortes evidências de que haja redução da biodisponibilidade do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um fator relaxante em aorta de camundongos, em modelos de dislipidemia. Os objetivos deste trabalho foram avaliar as alterações metabólicas e o papel da nNOS como fonte de H_2O_2 na disfunção endotelial induzida por hipercolesterolemia em camundongos jovens. **Metodologia.** Camundongos C57BL/6J de 4 semanas de vida foram submetidos à dieta rica em gordura e açúcar (HFS), acrescida de colesterol (1%) e colato (0,5%) ou dieta padrão (CT) por 5 semanas. Foram avaliados o ganho de peso, o status nutricional, o perfil lipídico plasmático e as respostas à insulina e glicose. Além disso, a funcionalidade vascular foi avaliada em sistema de banho de órgãos e transdutores isométricos e a pressão sistólica determinada por pletismografia de cauda. **Resultados.** O tratamento com a dieta HFS não induziu ganho de peso nos animais. A ingestão calórica e os níveis de albumina sérica não foram diferentes, no entanto, os níveis de colesterol total (CT=103±5,6; HFS=179,6±17,9 mg/dL; p=0,0017), LDL (CT=95,2±7,4; HFS=140,5±12,3 mg/dL; p=0,005) e HDL (CT=19,7±1,6; HFS=26,5±2,5 mg/dL; p=0,02) foram aumentados pela dieta. A glicose em jejum foi aumentada (CT=94±1,3; HFS=170,6±4,6 mg/dL; p<0,01) e a tolerância à glicose foi reduzida nos animais HFS (p<0,001). A pressão sistólica foi aumentada (CT=87,7±2,1; HFS=134,5±6,7 mmHg; p<0,01). A resposta vasorelaxante à ACh foi reduzida (E_{MAX-CT} =93,5±3,9; $E_{MAX-HFS}$ =31,8±4,9%; p<0,001) caracterizando uma disfunção endotelial. O bloqueio da nNOS com TRIM reduziu a resposta relaxante nos animais controle (CT=93,7±4,3; CT_{TRIM} =63,8±3%; p<0,001) mas não alterou a resposta nos animais HFS. A acetilcolina induziu um aumento da produção de H_2O_2 nos animais controle que foi reduzida pelo bloqueio da nNOS (CT=9604±262; CT_{TRIM} =2908±786URL; p<0,001). Os animais tratados com a dieta tiveram uma diminuição na produção de H_2O_2 (6184±151URL) que não foi afetada pelo bloqueio da nNOS. **Conclusão.** A dieta HFS induziu hipercolesterolemia, acompanhada de hiperglicemia e aumento da pressão arterial sistólica, associada a uma disfunção endotelial como consequência de uma diminuição na atividade da nNOS endotelial e redução do H_2O_2 . Apoio Financeiro: CAPES, FAPEMIG, CNPq

04.011

Alterações vasculares em modelo animal de obesidade induzida por dieta hiperglicêmica. Mendes, V. C.¹; Rezende, B. A.²; Pinho, J. F.¹; Capettini, L. S. A.¹; Coimbra, C. C.¹; Côrtes, S. F.²; Lemos, V. S.¹ ¹UFMG - Fisiologia e Biofísica; ²UFMG - Farmacologia

Introdução: A obesidade encontra-se na vanguarda dos fatores de risco para doenças cardiovasculares que impõe um enorme impacto sócio-econômico para a sociedade contemporânea. O estudo das alterações vasculares em modelos de obesidade pode ser de grande importância para o desenvolvimento de uma terapia direcionada para o tratamento dos distúrbios cardiovasculares acometidos em pacientes obesos. **Metodologia:** Ratos Wistar com 4 semanas de idade foram tratados com dieta hiperglicêmica “palatável” (33% leite condensado, 33% ração, 7% açúcar e 27% água) por um período de 5 semanas. Parâmetros bioquímicos e vasculares foram avaliados. Medidas de peso corporal total, peso das gorduras epididimal e retro-abdominal, glicemia, trigliceridemia, colesterolemia total e frações. A pressão arterial sistólica (PAS) foi medida por pletismografia de cauda. A reatividade vascular em aorta foi avaliada através de curvas cumulativas concentração-resposta em sistema de órgão isolado com o uso de transdutores isométricos. A expressão das enzimas óxido nítrico sintase induzida (iNOS) e endotelial (eNOS) foi avaliada por Western Blot. A dosagem de óxido nítrico (NO) foi feita pelo método fluorimétrico de DAN. **Resultados e discussão:** Animais submetidos à dieta palatável apresentaram um maior peso corporal total ($317,7 \pm 9,102$ vs $270,3 \pm 7,9$ g; $p < 0,01$) maior peso de gordura epididimal ($12,32 \pm 0,775$ vs $4,79 \pm 0,401$ g ; $p < 0,01$) e retro-abdominal ($16,25 \pm 2,17$ vs $5,34 \pm 0,684$ g; $p < 0,01$) quando comparados aos animais controle, caracterizando a obesidade nestes animais. Não houve diferença significativa nos dados de PAS, HDL, colesterol total e triglicérides. No entanto, foi observado um aumento na glicemia dos animais obesos ($118,90 \pm 23,28$ vs $79,24 \pm 11,02$ mg/dl; $p < 0,05$). Os dados de reatividade vascular não mostraram nenhuma disfunção endotelial. No entanto, houve uma disfunção contrátil pronunciada, caracterizada pela resposta à fenilefrina significativamente diminuída na aorta de animais obesos comparados aos animais controle ($EC_{50} = 0,47 \pm 0,034$ vs $EC_{50} = 0,06 \pm 0,01 \mu M$, $p < 0,01$; $E_{MAX} = 3,854 \pm 0,20$ mN/mm vs $7,103 \pm 0,49$; $P < 0,01$). Esta diferença de contratilidade não foi observada nos vasos desprovidos de endotélio ou após o pré-tratamento dos vasos com o inibidor não seletivo para NOS, L-NAME (300 μM)., indicando a participação do óxido nítrico (NO) endotelial neste efeito. O Pré-tratamento dos vasos com os inibidores que seletivamente inibem a iNOS em comparação com a eNOS 1400W (5 μM) e TRIM (300 μM) não modificaram a resposta contrátil de ambos os grupos. O L-NIO (10 μM) um potente inibidor da eNOS e o L-NNA que na concentração de 1 μM , inibe seletivamente a eNOS, restauraram a resposta contrátil nos animais obesos ao mesmo nível da contração dos animais controles. A análise da expressão protéica por Western Blot mostrou um aumento na expressão da eNOS na aorta dos animais obesos e a produção basal de NO se mostrou aumentada nestes animais. **Conclusão:** Estes resultados mostram uma menor resposta contrátil em vasos de animais obesos que provavelmente se relaciona a uma maior expressão da enzima eNOS.

04.012

The participation of arginases in atherosclerotic mice aorta artery reactivity to phenylephrine. Olivon, V. C.¹; de Oliveira AM¹; Stergiopoulos, N.²; da Silva F. R.² - ¹USP - Física e Química; ²Swiss Federal Institute of Technology - Life Sciences

Introduction: Ample evidence indicates that arginase expression and/or activity correlates with several risk factors for cardiovascular disease including atherosclerosis. Arginase, the final enzyme in the urea cycle, responsible for the hydrolysis of arginine to urea and ornithine, exist as cytosolic arginase I and mitochondrial arginase II. Therefore, in endothelial cells arginine is used as substrate by two enzyme pathways, namely the nitric oxide synthases (NOS) and arginase. Recently, it has been reported that higher arginase enzyme activity is involved in atherosclerotic endothelial dysfunction in apolipoprotein E-deficient mice. However, the role of arginase pathway has never been investigated. **Methods:** Vascular reactivity studies were realized using aorta artery from wild type (WT) and apolipoprotein E knockout (ApoE^{-/-}) mice, fed with high cholesterol diet, and from another subgroup chronically treated with nor-Noha, arginase inhibitor, (200 µg/kg/day, ip, during 9 weeks). Concentration-response curves to Phenylephrine (Phe) were constructed with intact endothelium and in presence or absence of L-NAME (inespecific nitric oxide inhibitor, 10⁻⁴ mol/L, 30 minutes). The pharmacological parameters of maximum effect (Emax) and the agonist potency (pD₂) were studied. Total cholesterol (mmol/L), HDL (mmol/L), LDL (mmol/L), heart rate, systolic and diastolic pressure were analyzed. **Results:** The results indicated Phe Emax increased in the WT group in presence of L-NAME when compare to WT group in absence of L-NAME. Phe Emax to ApoE^{-/-} group did not show significant difference in absence or presence of L-NAME. The treatment with nor-NOHA increased Phe Emax in both groups and indicated a significant difference in Phe Emax to ApoE^{-/-} in presence of L-NAME when to compare in absence to L-NAME (see table). There were no differences in pD₂ in the groups.

Groups				
Treatment	WT	WT+L-NAME	ApoE ^{-/-}	ApoE ^{-/-} +L-NAME
nor-NOHA (-)	0.28±0.04 g	0.60 ± 0.06 g*	0.29 ± 0.01 g	0.41±0.03 g
nor-NOHA (+)	0.65±0.06 g	1.06 ± 0.09 g*	0.52 ± 0.06 g	0.79±0.06 g*

One-way Anova and Newman Keuls post Test, P< 0,01 * vs control group.

Biochemistry analyses indicated an increase in total cholesterol, HDL, LDL values in the ApoE^{-/-} group as compared to WT group, in presence and absence of treatment. There were no significant differences in blood pressure and heart rate among groups. **Conclusions:** Our preliminary results suggest that arginase may contribute to the reduced participation of NO in this model. Apoio Financeiro: FAPESP and EPFL-LHTC

04.013

Estudo temporal da reatividade à endotelina-1 na artéria contralateral à lesão por balão cateterismo em carótida de ratos. Gimenes, L. R.¹; Pereira, A. C.²; Olivon, V. C.²; de Oliveira A. M.² - ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FCFRP-USP - Física e Química

Introdução: A lesão por balão cateter da carótida promove uma resposta neurocompensatória¹ bem como alterações na reatividade da artéria contra-lateral a lesão². A endotelina-1 (ET-1) participa da regulação do tônus vascular e também da formação de neointima. O objetivo do presente trabalho é estudar as consequências da resposta neurocompensatória sobre a reatividade à ET-1 em artéria contralateral 2, 8, 16, 30 e 45 dias após a lesão balão cateter.

Materiais e Métodos: Ratos Wistar machos adultos (90 dias; 400-450g) foram submetidos à cirurgia por balão (2F Forgaty) na carótida direita. As carótidas contralaterais foram isoladas e colocadas em banho de órgão isolado após 2, 8, 16, 30 e 45 dias. Curvas concentração-efeito para ET-1 (10^{-12} a 10^{-7} mol/L) foram obtidas tanto na ausência quanto na presença de endotélio. Após as curvas concentração-efeito serem construídas, os valores de efeito máximo (Emax) e potência (pD2) foram analisados. **Resultados:** O estudo temporal mostra que mecanismos neurocompensatórios à lesão por balão cateter alteraram eficácia aparente (Emax) a partir do 16º dia, por outro lado, a potência da ET-1 não foi alterada.

Grupo	Emax				
	2 dias	8 dias	16 dias	30 dias	45 dias
Controle ce	0,46±0,03g	0,52±0,04g	0,50±0,02g	0,52±0,04g	0,53±0,02g
Controle se	0,65±0,03*g	0,68±0,04*g	0,63±0,04*g	0,67±0,03*g	0,69±0,05*g
Operado ce	0,51±0,05g	0,51±0,05g	0,70±0,03*g	0,72±0,06*g	0,75±0,05*g
Operado se	0,49±0,03g	0,63±0,02g	0,69±0,03g	0,78±0,05g	0,78±0,06g

ce=com endotélio se= sem endotélio.*Diferença significativa em relação ao respectivo grupo controle ce em cada tempo pós-lesão. ANOVA, pós-teste Newman-Keuls.

Grupo	pD2				
	2 dias	8 dias	16 dias	30 dias	45 dias
Controle ce	8.03±0.19	8.73±0,12	9.05±0,10	8.57±0,07	8.48±0,12
Controle se	8.60±0,14	8.70±0,22	8.75±0,21	8.84±0,11	8.65±0,13
Operado ce	8.75±0,19	8.61±0,04	8.84±0,09	8,42±0,08	8.38±0,09
Operado se	8.39±0,27	8,76±0,18	8.47±0,06	8.82±0,09	8.55±0,12

Discussão: A lesão por cateter balão promove alterações tempo-dependente nos valores de Emax a partir do 16º dia. O aumento na eficácia aparente da ET1 na artéria contralateral à lesão pode ser decorrente de disfunção endotelial desencadeada pelo mecanismo neurocompensatório ao balão cateterismo previamente descrito⁽¹⁾. ¹Milner, P. J. Vasc. Res.34:31.1997. ²Accorsi-Mendonça, D. Brit. J. Pharm.142:79.2004. Apoio Financeiro: CNPq

04.014

Metalloproteinase-2 (MMP-2) may be involved in the cardiac hypertrophy and dysfunction in 2K-1C rats. Rizzi, E.¹; Castro, M. M.¹; Florêncio, B. C.¹; Fazan Jr, R.²; Tanus-Santos, J. E.¹; Gerlach, R. F.³ ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FMRP - Fisiologia; ³FORP-USP – MEF

Introduction: Cardiac hypertrophy occurs as a consequence of biomechanical stress, such as prolonged arterial pressure overload. MMPs, specifically MMP-2, plays a pivotal role in cardiovascular remodeling and dysfunction (1,2). Here, we hypothesized that MMP-2 is involved in cardiac hypertrophy and dysfunction induced by hypertension in 2K-1C rats. **Methods:** Goldblatt rats with renovascular hypertension were prepared by clipping the left renal artery of male Wistar rats (180–200 g) by clipping their left renal artery with a silver clip 0.4 mm in diameter (2K-1C rats). The rats were randomly assigned to one of four experimental groups, 2 weeks after surgery, as follows: sham-operated group or 2K-1C rats that received doxycycline (30mg/kg/day) or water for 8 weeks. Systolic blood pressure (SBP) was measured by the tail-cuff method weekly. After 8 weeks of treatment, the animals were anesthetized and a polyethylene catheter was inserted into the femoral artery to measure Blood pressure (BP), heart rate (HR), and another catheter was inserted into the carotid artery and then advanced into left ventricle (LV) for measurement of \pm dp/dt. Gelatin zymography of MMP-2 and in situ zymography of left ventricle samples were performed. **Results:** BP increased by 50% and \pm dp/dt increased by 30% in 2K-1C rats compared to Sham ($P < 0.05$). Doxycycline treatment attenuated by 17% these increases in 2K-1C rats ($P < 0.05$). Pro-MMP-2 and in situ gelatinolytic activity increased by 30% in left ventricles of 2K-1C rats ($P < 0.05$). No other significant differences were found. **Discussion:** Our results show that hypertension increases left ventricle MMP-2 activity, thus suggesting that MMP-2 plays a role in 2K-1C hypertension-induced cardiac remodeling and impaired cardiac function. MMP-2 inhibition may improve cardiac alterations induced by 2K-1C hypertension. **References:** 1. Bergman RM *et al*, *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007, 292: H184-60; 2. Schulz R, *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007; 47:211-42. Apoio Financeiro: CAPES, Fapesp, CNPq

04.015

Mecanismos intracelulares envolvidos no aumento da reatividade à endotelina-1 na artéria contralateral à lesão por balão cateterismo. Gimenes, L. R.¹; Pereira, A. C.²; Olivon, V. C.²; de Oliveira A. M.² - ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FCFRP-USP - Física e Química - Farmacologia

Introdução: A lesão por balão cateterismo promove alterações neurocompensatórias na artéria contralateral^{1,2}. Esse processo também parece desencadear modificações nas vias sinalizadoras intracelulares. Evidências prévias sugerem a participação de prostanóides no aumento da reatividade a fenilefrina em artéria contralateral². Dados do nosso laboratório indicam uma redução na biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) em artéria contralateral. O objetivo do presente trabalho é estudar a participação do NO e de prostanóides na alteração da reatividade à ET-1 na artéria contralateral a lesão no 16º dia após a lesão. **Materiais e Métodos:** Ratos Wistar machos adultos (90 dias; 400-450g) foram submetidos à cirurgia por balão (2F Fogarty) na carótida direita. Aos 16 dias, as carótidas foram isoladas e colocadas em banho de órgão isolado. Curvas concentração-efeito para ET-1 (10^{-12} a 10^{-7} mol/L) foram obtidas na ausência e presença de L-NAME (10^{-4} mol/L) e indometacina (10^{-5} mol/L) em artérias carótidas contralaterais à lesão, tanto na presença quanto na ausência de endotélio. Os valores de efeito máximo (Emax) e potência (pD2) foram analisadas. **Resultados:** Os resultados indicam que a lesão por balão cateter, aumenta a eficácia aparente, mas não a potência da ET-1, não sendo estes parâmetros modificados pelo L-NAME como no controle. A indometacina não modifica o efeito da ET-1, em carótidas de animais controle ou submetidos à lesão por balão cateter.

Grupos	Emax		pD2	
	c/e	s/e	c/e	s/e
Controle	0.50±0.02g	0.63±0.04g	9.05±0.10	8.79±0.18
Controle+Indometacina	0.52±0.02g	0.72±0.07g	8.83±0.18	8.98±0.11
Controle+L-NAME	0.71±0.06*g	0.83±0.03*g	9.11±0.12	9.08±0.21
Operado	0.70±0.03*g	0.69±0.03g	8.84±0.09	8.47±0.06
Operado+Indometacina	0.62±0.05 g	0.69±0.04g	8.95±0.06	9.15±0.05
Operado+L-NAME	0.73±0.02g	0.66±0.03g	9.28±0.09	8.65±0.31

c/e=com endotélio; s/e=sem endotélio.*Diferença significativa em relação ao grupo controle com e sem endotélio, na ausência e presença de L-NAME. ANOVA, pós-teste Newman-Keuls.

Discussão: A lesão por balão cateter compromete, na artéria contralateral, a biodisponibilidade de NO na artéria contralateral a lesão, que por sua vez, contribuiria para o aumento da resposta contrátil máxima desencadeada pela ET-1, por outro lado, os prostanóides parecem não participar da resposta da ET-1 na carótida. ¹Milner, P. J. *Vasc. Res.* 34:31.1997. ²Accorsi-Mendonça, D. *Brit. J. Pharm.* 142:79.2004. Apoio Financeiro: CNPq

04.016

Efeito do treinamento aeróbio sobre as alterações metabólicas e cardiovasculares induzidas por uma dieta hipercalórica em camundongos. Silva, J. F.¹; Campos, L. V. D. A.¹; Capettini, L. S. A.¹; Pinho, J. F.¹; Rezende, B. A.¹; Mendes, V. C.¹; Côrtes, S. F.²; Coimbra, C. C.¹; Lemos, V. S.¹ – ¹UFMG- Fisiologia e Biofísica; ²UFMG - Farmacologia

Introdução: A obesidade é fator causal de várias patologias, entre as quais as doenças cardiovasculares. Os benefícios da atividade física aeróbia sobre a função cardiovascular são motivo de controversa no meio científico. O objetivo do presente estudo é avaliar o impacto do exercício físico sobre as alterações vasculares e metabólicas induzidas por uma dieta hipercalórica. **Metodologia:** Camundongos C57BL/6J (12 semanas) foram divididos em quatro grupos: sedentário+dieta controle (SC); sedentário+dieta hipercalórica (SD); exercício+dieta controle (EC) e exercício+dieta hipercalórica (ED). Os animais foram tratados com uma dieta hipercalórica (33% ração, 33% leite condensado, 27% H₂O, 7% açúcar) ou dieta controle por oito semanas, sendo o exercício feito, simultaneamente, em esteira (55% da capacidade obtida no teste de esforço máximo). Foram avaliados peso total, gordura epididimal e abdominal, glicemia, trigliceridemia, HDL, LDL e ácidos graxos livres. A reatividade vascular da aorta foi avaliada em banho de órgão utilizando transdutores isométricos. A pressão arterial sistólica foi aferida por plestimografia de cauda. **Resultados:** A dieta induziu um aumento na deposição de gordura abdominal (SC=0.31±0.03; SD=0.56±0.04g; p<0,001) e epididimal (SC=0.19±0.02; SD=0.43±0.08g; p<0,01). O exercício reverteu esse aumento (abdominal; SD=0.56±0.04; ED=0.37±0.04g; p<0,01) (epididimal; SD=0.43±0.08; ED=0.23±0.03g; p<0,05). Não houve diferença nos valores entre os grupos SC e EC. A dieta também aumentou os níveis de LDL (SC=38,48±9,1; SD=75,86±8,5 mg.dL⁻¹ p<0,05) e a relação LDL/HDL (SC=1.13±0.3; SD=2.43±0.45; p<0,05). O grupo ED diminuiu a relação LDL/HDL (p<0,05). A dieta não alterou os níveis de triglicérides, glicose, ácidos graxos livres e pressão arterial. Os dados de reatividade vascular mostraram uma disfunção contrátil, caracterizada pela resposta à fenilefrina diminuída na aorta dos animais SD comparados aos animais SC (p<0,01). Esta diferença de contratilidade não foi observada nos vasos sem endotélio ou após o pré-tratamento com o inibidor não seletivo para NOS, L-NAME (300 µM). O exercício (ED), não foi capaz de restaurar a resposta contrátil induzida pela dieta. **Conclusão:** A dieta hipercalórica induziu, nos camundongos, alterações metabólicas semelhantes às observadas na obesidade humana. Os dados de reatividade vascular sugerem que a dieta induz um aumento na produção basal de óxido nítrico com conseqüente redução na força de contração. O exercício físico restaura a valores normais as alterações metabólicas, mas não melhora as alterações vasculares induzidas pela dieta. Estes resultados sugerem que as alterações vasculares neste modelo são uma conseqüência da dieta e não da obesidade. Apoio Financeiro: CNPq, FAPEMIG

04.017

Efeitos de uma dieta hipercalórica na função cardíaca em corações isolados de ratos. Rodrigues, L. F.¹; Silva, G. A. B.²; Lemos, V. S.³; Almeida, A. P.³ ¹UFMG - Fisiologia e Farmacologia; ²UFMG – Morfologia; ³UFMG - Fisiologia e Biofísica

Introdução: O consumo de uma dieta hipercalórica associada a um estilo de vida sedentário ocasiona um problema de saúde pública, denominado obesidade. Esta entidade clínica representa alto risco para as doenças cardiovasculares, predispondo a hipertensão arterial, diabetes, infarto do miocárdio e doença vascular periférica. Estudos recentes relatam que animais tratados com a dieta Palatable, a qual contém alta concentração de gordura e açúcar, apresentaram disfunção endotelial. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a função cardíaca de animais tratados com essa dieta. **Metodologia:** Ratos Wistar machos com 4 semanas de vida foram divididos em dois grupos: 1º) Grupo Controle (ração Nuvilab) e 2º) Grupo Dieta Palatable (33% de leite condensado, 33% de ração, 7% de açúcar e 27% de água). Os animais foram tratados durante 5 e 10 semanas. O controle de peso dos animais foram mensurados semanalmente até a data do sacrifício. Após tratamento, os animais foram sacrificados e em seguida tiveram seus corações retirados, canulados e perfundidos com solução de Krebs-Ringer no sistema de Langendorff com pressão constante (65 mmHg). A isquemia de reperfusão foi induzida por oclusão da artéria coronária esquerda durante 15 minutos. O teste de Two-way ANOVA seguido do teste de Bonferroni foi utilizado para a comparação entre médias de valores distintos de um grupo com as médias de valores de um segundo grupo. O nível de significância foi de $p < 0,05$. **Resultados:** Os animais tratados durante 5 semanas apresentaram frequência (FC) e tensão sistólica semelhantes ao grupo controle nos períodos de estabilização e isquemia. Entretanto, o fluxo coronariano do grupo da dieta aumentou ($5,5 \pm 1,0$ mL/min., $n=8$) em relação ao grupo controle ($4,0 \pm 1,0$ mL/min., $n=7$) ($p < 0,001$). Além disso, o grupo tratado com a dieta apresentou redução da tensão diastólica ($1,2 \pm 0,1$, $n=8$) em relação ao grupo controle ($1,5 \pm 0,1$, $n=7$) ($p < 0,01$). Os animais tratados durante 10 semanas apresentaram FC, tensão sistólica e diastólica semelhantes ao do grupo controle nos períodos de estabilização e reperfusão. Entretanto, a dieta induziu uma diminuição do fluxo coronariano na estabilização ($8,0 \pm 2,0$, $n=4$) e reperfusão ($4,0 \pm 1,0$, $n=4$) quando comparado ao grupo controle ($10,0 \pm 2,0$, $n=4$ e $7,0 \pm 1,0$, $n=4$, respectivamente) ($p, 0,001$ e $p < 0,0001$). **Conclusão:** Os animais submetidos a dieta Palatable durante 5 semanas apresentaram melhora do relaxamento cardíaco e do fluxo coronariano. Entretanto, o tratamento crônico (10 semanas) promoveu uma vasoconstrição coronariana, conseqüentemente, predispondo a uma disfunção cardíaca. Apoio Financeiro: Capes

04.018

Effects of balloon catheter injury on angiotensin vascular reactivity of non-injured artery. Olivon, V. C.¹; Ramalho, L.²; de Oliveira A. M.¹ - ¹USP - Física e Química; ²USP - Patologia

Introduction: The effects of balloon catheter injury procedure in the ipsilateral artery have been extensively study. More recently, it has been shown that balloon injury also altered contralateral artery reactivity, which occurs at different postinjury times. Balloon catheter injury induced an increased on angiotensin II (Ang II)-contraction in contralateral (CL) carotid artery while compared to control (CO) artery. However, it is not yet known the role of each subtype of angiotensin receptors (AT₁ and AT₂), as well as, the participation of the others angiotensin system components in this increase. **Methods:** For vascular reactivity studies were used carotid artery from adult Wistar rats CO and CL of unilateral balloon catheter injury groups after 15 days of surgery. Concentration-response curves were constructed to Ang II and Angiotensin I (Ang I) with and without endothelium. For investigated the participation of AngII receptors were constructed curve to AngII, with endothelium, in the presence of Losartan (Los) and PD123,319 (PD) (selective antagonist receptor for AT₁ and AT₂, respectively) in differents concentrations (10⁻⁹ mol/L, 10⁻⁸ mol/L, 10⁻⁷ mol/L and 10⁻⁶ mol/L, 30 min.). Morphological and morphometric analyses were made using hematoxiline-eosine, picrosirius red and Verhoeff staining. **Results:** Ang II Emax was increased after balloon injury in CL when compared to CO. In the presence of AT₁ and AT₂ receptors antagonist this difference was abolished. Ang I Emax was not different to CL when compare to CO group (see table).

Groups	Emax		pD2	
	CO	CL	CO	CL
Agonist				
Ang II (E+)	0.28±0.01g	0.38±0.01g*	9.24±0.13g	9.20±0.13g
Ang II (E-)	0.36±0.01g	0.34±0.02g	8.91±0.1g	9.11±0.11g
AngII+Los 10 ⁻⁹ mol/L	0.29±0.01g	0.37±0.01g*	8.61±0.13g	8.89±0.13g
AngII+Los 10 ⁻⁸ mol/L	0.27±0.02g	0.36±0.01g*	8.80±0.03g	7.87±0.03g*
AngII+Los 10 ⁻⁷ mol/L	0.19±0.01g	0.26±0.01g*#	8.19±0.06g*	7.87±0.19g*
AngII+Los 10 ⁻⁶ mol/L	0.17±0.01g	0.12±0.01g#	7.55±0.05g*	7.52±0.07g*
AngII+PD 10 ⁻⁹ mol/L	0.27±0.01g	0.39±0.01g*	8.89±0.11g	8.36±0.05g
AngII+PD 10 ⁻⁸ mol/L	0.28±0.02g	0.45±0.04g*	8.11±0.03g	9.15±0.11g
AngII+PD 10 ⁻⁷ mol/L	0.31±0.04g	0.24±0.03g*#	9.43±0.02g	9.43±0.02g
AngII+PD 10 ⁻⁶ mol/L	0.22±0.03g	0.24±0.03g#	9.46±0.01g	9.46±0.01g
Ang I (E+)	0.24±0.03g	0.23±0.02g	8.27±0.06g	8.29±0.08g
Ang I (E-)	0.44±0.03g	0.48±0.03g	8.34±0.05g	8.40±0.07g

P < 0.001 * vs CO; P < 0.001# vs CL.

There was no difference in morphological and morphometric analyses of CL when compared to CO group.

Conclusions: The results suggest that increased Ang II-induced contraction in CL could be associated with differences in the AT₁ and AT₂ receptors responses. The increase in the AngII-contraction in the CL is not related to alterations in the Ang I vascular reactivity or morphologic and morphometric characteristics. Apoio Financeiro: FAPESP and CNPq

04.019

Participação de óxido nítrico e de espécies reativas de oxigênio na mobilização de cálcio em artéria carótida contra-lateral à lesão por balão cateter. Pereira, A. C.¹; Olivon, V. C.¹; Gimenes, L. R.³; de Oliveira A. M.¹ – ¹FCFRP-USP - Física e Química; ³FMRP-USP - Farmacologia

Introdução: A resposta neurocompensatória decorrente da lesão por balão cateter resulta em alterações de reatividade na artéria carótida contra-lateral à lesão, de forma tempo e agonista dependente¹. O objetivo deste trabalho é estudar a participação de óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (ROS) na mobilização de cálcio, induzido por fenilefrina (Phe), 4 dias após a lesão por balão cateter. **Métodos:** Ratos Wistar adultos machos (70 dias, 400-420g) foram submetidos à cirurgia unilateral de lesão por balão cateter na carótida. Os estudos de reatividade foram realizados em banho de órgão isolado, em carótidas contra-laterais à lesão (4 dias após) e em carótidas de animais controle (com e sem endotélio). A mobilização do cálcio intra e extracelular induzida por Phe (10^{-7} M), foi realizada em meio zero-cálcio. O influxo de cálcio extracelular foi analisado por meio de curvas cumulativas concentração-resposta para CaCl_2 (0,05-2,50 M), na ausência e na presença do inibidor inespecífico de NOS, L-NAME (10^{-4} M) e do sequestrador de ROS, Tempol (10^{-3} M). Foram feitas dosagens de nitrito e nitrato, de nitrotirosina e marcação para ROS com DHE. **Resultados:** A lesão por balão cateter não alterou a mobilização do cálcio intracelular na carótida contra-lateral. Aos 4 dias após a lesão foi observada redução no efeito máximo (Emax) para CaCl_2 na carótida contra-lateral ($0,14 \pm 0,01$) em comparação ao controle ($0,23 \pm 0,02$), com endotélio. Na presença de L-NAME, o Emax para CaCl_2 obtido na carótida contra-lateral ($0,51 \pm 0,03$) foi semelhante ao controle ($0,53 \pm 0,03$). O mesmo foi observado na presença de Tempol (contra-lateral: $0,32 \pm 0,02$; controle: $0,36 \pm 0,02$). A dosagem de nitrato apresentou-se normal, enquanto a de nitrito e de nitrotirosina apresentaram-se reduzidas na carótida contra-lateral à lesão. **Discussão:** Os resultados obtidos mostram que apesar da hiperreatividade à Phe, o influxo de cálcio extracelular está reduzido na artéria carótida contra-lateral à lesão por balão cateter. A análise dos dados sugere ainda que a NOS esteja desacoplada, gerando ROS e diminuindo a biodisponibilidade de NO. Estudos posteriores serão realizados para esclarecer como esses componentes celulares reduzem a mobilização de cálcio pela ativação de alfa-adrenoceptores.

¹ Milner, P. J. *Vasc. Res.* 34: 31. 1997. ² Accorsi-Mendonça, D. *Brit. J. Pharm.* 142: 79. 2004.
Apoio Financeiro: Suporte financeiro: CAPES

04.020

Estudo da mobilização de cálcio na artéria carótida contra-lateral à lesão por balão cateter. Pereira, A. C.¹; Olivon, V. C.¹; Gimenes, L. R.²; de Oliveira A. M.¹ – ¹FCFRP-USP - Física e Química; ²FMRP-USP - Farmacologia

Introdução: A lesão por balão cateter desencadeia resposta neurocompensatória na carótida contra-lateral à lesão¹, resultando em alterações de reatividade a fenilefrina (Phe)². O objetivo deste trabalho é o estudo temporal da mobilização de cálcio, induzida por Phe, na carótida contra-lateral à lesão por balão cateter. **Métodos:** Ratos Wistar adultos machos (70 dias; 400-420g) foram submetidos à cirurgia de lesão por balão cateter na carótida. Os estudos de reatividade foram realizados 1, 2, 4 e 15 dias após, em anéis de carótidas contra-laterais à lesão e de carótidas de animais controle, com e sem endotélio, em banho de órgão isolado. A reatividade à Phe foi estudada em curvas cumulativas concentração-resposta para Phe (10^{-10} - 10^{-5} M). A mobilização do cálcio intra e extracelular estimulada por Phe (10^{-7} M), foi efetuada em meio zero-cálcio. O influxo de cálcio extracelular foi avaliado em curvas cumulativas concentração-resposta para CaCl_2 (0,05-2,50 M), na presença e ausência de L-NAME (10^{-4} M) ou Indometacina (10^{-5} M). **Resultados:** No 1º e 2º dia após a lesão, não foram observadas alterações de reatividade na carótida contra-lateral. No 4º dia após a lesão, foram observados aumento do efeito máximo (Emax) para Phe e redução no influxo de cálcio extracelular na carótida contra-lateral com endotélio. No 15º dia após a lesão o Emax da Phe na carótida contra-lateral foi o mesmo obtido em carótida controle com endotélio, mas ainda observou-se redução no influxo de cálcio (Tabela 1). Na presença de L-NAME, o influxo de cálcio extracelular na carótida contra-lateral retornou aos valores do controle, enquanto a presença de Indometacina não modificou as alterações de mobilização de cálcio observadas (Tabela 1).

Tabela 1: Valores de Emax para Phe e CaCl_2 em carótidas controle e contra-laterais à lesão por balão cateter.

Grupos	controle	1	2	4	15
dias após a lesão					
Phe	0,36±0,03	0,36±0,03	0,44±0,02	0,56±0,04*	0,37±0,03
CaCl_2	0,23±0,02	0,23±0,02	0,20±0,02	0,14±0,01*	0,12±0,01*
CaCl_2^1	0,25±0,02	-	-	0,16±0,01*	0,14±0,01*
CaCl_2^2	0,54±0,03	-	-	0,51±0,03	0,53±0,03

Anova, pós-teste de Newman-Keuls, $P < 0,05$. ¹Indometacina; ²L-NAME. * diferença em relação ao controle.

Discussão: O aumento da reatividade à Phe em artéria contra-lateral à lesão, não está relacionado ao aumento no influxo de cálcio extracelular. Os resultados obtidos sugerem que a hiperreatividade à Phe observada na carótida contra-lateral é um mecanismo independente de cálcio e que na redução do influxo de cálcio extracelular não há participação de prostanóides, mas de NO. Estudos posteriores serão realizados para esclarecer os mecanismos celulares envolvidos neste processo. ¹Milner, P. J. *Vasc. Res.* 34: 31. 1997. ²Accorsi-Mendonça, D. *Brit. J. Pharm.* 142: 79. 2004. Apoio Financeiro: Suporte financeiro: CAPES

04.021
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.022

Vasopeptide processing in murine mesenteric arterial bed (MAB) perfusate. Pereira, H. J. V.¹; Souza, P.P.C.¹; Sivieri-Jr., D. O.²; Salgado, M. C. O.²; de Souza, L. L.¹; Costa-Neto, C. M.¹; Oliveira, E. B.¹ - ¹FMRP - USP - Bioquímica; ²FMRP-USP - Farmacologia

Introduction: The rat MAB perfusate is a rich source of vasopeptidases, among which elastase-2 has been recognized as the major angiotensin (Ang) II-forming enzyme and carboxypeptidase B the only conspicuous bradykinin (BK)-cleaving enzyme. Besides, a perfused rat MAB secretes a considerable amount of thus far uncharacterized CPA-like enzymes which endows the corresponding perfusate with efficient Ang I and Ang II-processing pathways. The above mentioned proteases are mostly regarded as digestive pancreatic enzymes, whose participation in control mechanisms has only recently been considered relevant to some particular tissues. To further understand the physiological importance of these enzymes in the local peptide metabolism of the mesentery we compared both the proteolytic compositions of rat and mouse MAB perfusates, and the expression of mRNAs for various proteases in the mesentery of these murine species. **Methods:** Proteolytic activities toward Ang and BK were determined by C-18 HPLC analyses of the respective fragments formed in the presence or absence of inhibitors. Tissue RNA was extracted using the RNAqueous-4PCR[®] kit; cDNA was synthesized using 0.5 µg of the corresponding RNA and reverse transcriptase (RT) Improm II. Quantitative real-time PCR was performed with SyBr Green using gene-specific primers for the individual proteins. In all cases, no amplification was detected in samples lacking RT. Variability in real-time PCR amplification due to differences in starting RNA concentrations was normalized using RPL13A as internal standard. **Results:** The patterns of the rat MAB perfusate-catalyzed cleavage of AI, AII and BK were similar to those analogously generated by the mouse perfusate, as determined by HPLC analyses. It was also observed that both MABs released into the corresponding perfusate a comparable amount, on a per min basis, of the various peptidases. The protease inhibitors SBTI, PCI, o-phenanthroline and MGTA interfered equally with the proteolytic actions of rat and mouse MAB perfusates. The elastase-2, CPB and CPAs 1-6 mRNA expressions in both rat and mouse mesenteries were evaluated, indicating that only elastase-2, CPB, CPA1, CPA2 and CPA3 mRNAs were present in these tissues. **Discussion:** Our results suggest that both rat and mouse MAB perfusates contain the same proteolytic array capable of forming des-Arg⁹ BK from BK, converting Ang I to Ang II, and generating Ang 1-9 and Ang 1-7 from Ang I and Ang II, respectively. The expression of CPA3 mRNA in murine mesentery suggests that CPA3 might be the protease responsible for Ang 1-7 formation in the MAB perfusate. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq.

04.023

Matrix metalloproteinase inhibition protects the myocardium against acute pulmonary thromboembolism- induced release of cardiac troponin I. Neto-Neves, E. M.¹; Dias-Junior, C. A. C.¹; Rizzi, E.¹; Castro, M. M.¹; Gerlach, R. F.²; Tanus-Santos, J. E.¹ - ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FORP - USP - Morfologia

Introduction: Acute pulmonary thromboembolism (APT) is an important cause of morbidity and death. Recent studies have addressed the relevance of pulmonary artery vasoconstriction in APT. A group of zinc-dependent endopeptidases called matrix metalloproteinases is involved in the degradation of components of extracellular matrix and may play a role in the pulmonary vascular contractility. Elevation of cardiac troponins (cTnI and cTnT) levels in serum is a reliable indicator of myocardial injury. Recently, studies showed an elevation of cTnI in patients with a ventricular dysfunction caused by APT. **Hypothesis:** Inhibition of matrix metalloproteinases by doxycycline attenuates APT-induced increases in serum cTnI levels. **Methods:** This study was approved by our Institutional review committee (process: 102/2006). Sham operated dogs (N=4) received only saline. APT was induced by autologous blood clots injected into the right atrium in the Emb group (N=10); Doxy group (N=4) received intravenous infusion of doxycycline (10 mg/kg) during 10 minutes; Doxy+Emb group (N=10) received doxycycline before APT. Measurement of gelatinolytic matrix metalloproteinases activity by antibody capture assay and by in situ zymography from cardiac samples were performed. The extent of neutrophil accumulation in the heart was measured by assaying myeloperoxidase (MPO) activity and cTnI was measured by fluorimetric enzyme immunoassay. **Results:** No significant hemodynamic changes were found in Sham and Doxy groups. Embolization increased mean pulmonary arterial pressure (from 12 ± 1 to 31 ± 2 mmHg) and the pulmonary vascular resistance index (from 145 ± 23 to 825 ± 103 dyn.s.cm) in Emb group (both $P < 0.05$). Doxycycline improved the cardiac index, reduced pulmonary vascular resistance index to 500 ± 54 dyn.s.cm and mean pulmonary arterial pressure to 25 ± 2 mmHg, 120 min after APT in Doxy+Emb group (both $P < 0.05$). Cardiac gelatinolytic matrix metalloproteinases activity was increased in Emb group 120 min after APT. Doxycycline attenuated APT-induced increases in both cardiac gelatinolytic matrix metalloproteinases activity, MPO and serum cTnI (by 61% and 43%, respectively; both $P < 0.05$). **Conclusions:** These results suggest that matrix metalloproteinases inhibition protects the myocardium against APT-induced increases in cTnI, possibly resulting in beneficial hemodynamic effect. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq and FAPESP

04.024

Efeito de dietas enriquecidas com ácidos graxos ω -3, ω -6 e ω -9 sobre o sistema vascular de ratos hipertensos. Loiola, R. A.¹; Abreu, G. G.¹; Tudela R²; Pesquero, J. B.³; Silveira, V. L. F.²; Fernandes, L.² - ¹UNIFESP - Fisiologia; ²UNIFESP - Diadema - Ciências Biológicas; ³UNIFESP - Biofísica

Introdução: Estudos populacionais sugerem que dietas enriquecidas com altos níveis de ácidos graxos (AGs) ω -3, ω -6 e ω -9 promovem redução da pressão arterial e do risco de eventos cardiovasculares. O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos de dietas normolipídicas enriquecidas com óleos de peixe (ω -3), soja (ω -6) e oliva (ω -9) no sistema vascular de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) jovens (fase pré-hipertensiva) e adultos (hipertensão estabelecida), tendo como enfoque central os sistemas renina-angiotensina e calicreína-cininas. **Métodos:** SHR machos, jovens (5 semanas) e adultos (12 semanas) foram alimentados durante 6 semanas com ração comercial (Grupo Comercial, Nuvilab[®]) ou dietas normolipídicas (6-10%) contendo óleo de peixe (Grupo Peixe), soja (Grupo Soja) ou oliva (Grupo Oliva). A pressão arterial (PA) foi mensurada semanalmente por pletismografia de cauda. Ao final do tratamento, vasos isolados do leito arterial mesentérico foram pré-contraídos com fenilefrina (Phe) (perfusão 4 mL/min) e testados com bradicinina (BK), acetilcolina (ACh), nitroprussiato de sódio (NPS) e angiotensina II (All). **Resultados:** Em SHR jovens, as diferentes dietas não preveniram o desenvolvimento da hipertensão. Grupos Peixe, Soja e Oliva apresentaram redução de vasodilatação induzida por BK (Tabela 1). Em SHR adultos as dietas não modificaram a hipertensão já existente; Grupos Peixe e Oliva apresentaram aumento na resposta vasoconstritora à Phe e All (Tabela 2).

Tabela 1: PA (6^a semana do tratamento) e resposta vascular de SHR jovens.

Grupo	PA (mmHg)	n	Phe [#] 30 μ M	BK [§] 1 pmol	BK [§] 30 pmol	ACh [§] 1 nmol	NPS [§] 10 nmol	n
Comercial	160,4 \pm 1,5	8	92,8 \pm 9,5	35,8 \pm 2,3	39,8 \pm 3,3	45,9 \pm 9,3	77 \pm 11,8	3
Peixe	168,9 \pm 2,4	7	147,4 \pm 30,3*	14,1 \pm 2*	20,7 \pm 1,1*	40,4 \pm 14,7	69,1 \pm 9,1	5
Soja	183,5 \pm 2,7*	8	76,5 \pm 11	11,0 \pm 3,1*	18,8 \pm 2,4*	64,3 \pm 8,2	84,3 \pm 6,2	6
Oliva	184,3 \pm 6,5*	7	205,9 \pm 44,2*	18 \pm 5,1*	21,9 \pm 4,1*	49,5 \pm 9,13	85,9 \pm 1,6	6

Tabela 2: PA (6^a semana do tratamento) e resposta vascular de SHR adultos.

Grupo	PA (mmHg)	Phe [#] 3 μ M	All ⁺ 0,3nmol	All ⁺ 1 nmol	n
Comercial	188,8 \pm 4,6	6,7 \pm 3,9	49,6 \pm 4,9	39,6 \pm 3,6	9
Peixe	182,7 \pm 3,1	23,8 \pm 1,3*	54,8 \pm 8,1	68,2 \pm 7,7*	10
Soja	182,5 \pm 6,6	19,8 \pm 3	45,8 \pm 6,4	40,6 \pm 4,2	9
Oliva	187,7 \pm 4,4	24,0 \pm 7,1*	101,8 \pm 14,7*	78,6 \pm 17,7*	7

(#) aumento da pressão de perfusão (mmHg); (§) % de redução e (+) % de aumento de pressão de perfusão em relação à contração induzida por Phe; (*) P <.05 vs Grupo Comercial; média \pm epm.

Conclusão: Em SHR jovens ou adultos, o tratamento com ácidos graxos ω -3, ω -6 e ω -9 não produz hipotensão, prejudica o efeito vasodilatador de BK e exacerba a vasoconstricção induzida por All. A adição destes AGs em concentrações de 6 a 10 % não confere proteção vascular em ratos geneticamente hipertensos. Agradecimento: Azeite Borges. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES e FAPESP

04.025

Vasorelaxant action of piplartine also involves blockade of L-type calcium channels on rat aorta. Silva, J. L. V.¹; Santos, R. F.¹; Cavalcante, F. de A.²; Chaves, M. C. O.¹; Rigoni, V. L. S.⁴; Aboulafia, J.²; Nouailhetas, V. L. A.²; Silva, B. A. da¹ - ¹UFPB-LTF-CCS; ²UFAL - ICBS; ²UNIFESP - Biofísica

Introduction: piplartine {5,6-dihydro-1-[1-oxo-3-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-2-propenyl]-2(1H)pyridinone} is an alkaloid isolated from stems and roots of *Piper tuberculatum* Jacq. Previous results showed that piplartine relaxes rat aorta through activation of K_{ATP}^- , SK_{Ca}^- , K_{ir}^- , BK_{Ca} -channels, probably by the indirect blockade of Ca^{2+} influx through voltage-gated Ca^{2+} channels (Ca_v). We now investigated whether rat aorta relaxation promoted by piplartine is also due to blockade of Ca^{2+} influx through L-type Ca_v . **Methods:** aorta rings, without functional endothelium, isolated of male rats were suspended in organ bath cubes (6 mL) containing Krebs solution (pH 7.4) bubbled with 95 % O_2 and 5 % CO_2 mixture, at 37 °C, under 1 g basal tension. Isometric contractions were recorded through a tension transducer connected to an amplifier coupled to a data-acquisition system BioMed in a personal computer. **Results:** piplartine (3×10^{-5} , 10^{-4} and 3×10^{-4} M) caused non-parallel shifts to the right of the cumulative $CaCl_2$ -concentration response curves and associated with a reduction of E_{max} in the presence of nominally Ca^{2+} -free high depolarizing medium ($n = 3$). In the presence of CsCl, a non-selective blocker of K^+ -channels, that piplartine blockade was slightly reduced ($n = 3$). Piplartine ($EC_{50} = 5.0 \pm 0.7 \times 10^{-5}$ M, $n = 5$) fully relaxed in a concentration-dependent manner the aorta rings pre-contracted by S(-)-Bay K8644, an activator of L-type Ca_v . This effect was attenuated ($p < 0.0001$) ($EC_{50} = 1.4 \pm 0.07 \times 10^{-4}$ M, $n = 5$) in the presence of CsCl. Finally, in the presence of piplartine (3×10^{-5} , 10^{-4} and 3×10^{-4} M) the cumulative concentration response curves induced by S(-)-Bay K8644 were shifted to the right with a reduction of E_{max} ($n = 3$). **Discussion:** all together, these results strongly argue that the vasorelaxant mechanism of piplartine on rat aorta also involves the blockade of L-type Ca_v , beyond its effect on K^+ -channels. Apoio Financeiro: CNPq; UFPB/LTF; UNIFESP/EPM

04.026
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.027
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.028

Avaliação de parâmetros fisiológicos e marcadores de estresse oxidativo em camundongos fêmeas *knockout* para o receptor de lipoproteínas de baixa densidade (LDLR *-/-*). Hort, M. A.¹; Netto, P.M.¹; Oliveira, J.²; Glaser, V.²; Mancini, G.²; Latini, A.²; Bem, A. F.²; Ribeiro-Do-Valle, R. M.¹ ¹UFSC- Farmacologia; ²UFSC- Bioquímica

Introdução: Aterosclerose é uma doença progressiva caracterizada por um acúmulo de colesterol no interior das artérias de grande e médio calibre. A geração aumentada de espécies reativas possui um papel importante na oxidação da LDL e no processo de disfunção endotelial envolvidos na aterogênese. Este trabalho teve como objetivo caracterizar as modificações induzidas pela hipercolesterolemia em parâmetros fisiológicos e de estresse oxidativo em camundongos LDLr *-/-*. **Métodos:** Camundongos fêmeas C57BL/6 (LDLr *-/-*) foram divididos em 2 grupos: alimentados com dieta normal (LDLKO) ou dieta hipercolesterolêmica (LDLKO HC). Camundongos fêmeas C57BL/6 *wild type* (WT) foram utilizadas como controle. Após 20 dias de tratamento foram avaliados: peso, ingesta alimentar, grau de dislipidemia, disfunção endotelial em aorta torácica isolada, marcadores de estresse oxidativo [Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), SH Não-Protéico (NPSH), e atividades de Glutathiona Peroxidase (GPx) e Glutathiona Redutase (GR)] e atividade de complexos (I e II) da cadeia respiratória no fígado. **Resultados:** A ingestão de dieta hipercolesterolêmica, aumentou significativamente os níveis de colesterol total nos animais LDLKO HC (WT, 97,0±9,3; LDLKO, 270,2±13,9; LDLKO HC, 984,1±54,2 mg/dl). A hipercolesterolemia foi correlacionada positivamente com o aumento da peroxidação lipídica no fígado (WT, 1,29 ± 0,21; LDLKO, 2,09 ± 0,13; LDLKO HC, 2,34 ± 0,35 µmol/g de tecido), entretanto os níveis de NPSH e as atividades de GPx e GR não foram diferentes entre os grupos. Foi observado um aumento significativo na atividade dos complexos I e II da cadeia respiratória no fígado dos animais do grupo LDLKO HC (Complexo I: WT, 1849,84 ± 78,98; LDLKO, 1464,46 ± 159,57; LDLKO HC, 2092,63 ± 245,92 mmol/min/mg de proteína; Complexo II: WT, 3,59 ± 0,72 ; LDLKO, 1,84 ± 0,49; LDLKO HC, 9,84 ± 1,62 mmol/min/mg de proteína). Em aorta torácica isolada, o grupo LDLKO HC apresentou uma diminuição significativa do relaxamento máximo induzido pela acetilcolina (32,80 ± 10,14%) em relação aos grupos WT (67,25 ± 6,27%) e LDLKO (77,20 ± 9,44%). **Discussão:** É possível observar o envolvimento do estresse oxidativo neste modelo de aterosclerose experimental através do aumento da peroxidação lipídica e da atividade dos complexos I e II da cadeia respiratória no fígado dos animais LDL *-/-* submetidos à uma dieta rica em lipídeos. Além disso, a hipercolesterolemia foi acompanhada por disfunção endotelial, fator determinante para o processo de aterogênese. Apoio Financeiro: Redoxoma/CNPq, Finep, Fapesc

04.029

Cardiovascular effects of the n-butanol extract from *Kalanchoe crenata* Andr. (Crassulaceae) leaves. Nguelefack, T. B.¹; Dimo, T.²; Dongmo, A. B.³; Sontia, B.⁴; Fotio, A. L.²; Watcho, P.¹; Kamanyi, A.¹; Vierling, W.⁴ ¹University of Dschang - Animal Biology; ²University of Yaounde - Animal Biology and Physiology; ³University of Douala - Animal Biology and Physiology; ⁴Technical University of Munich - Pharmacology and Toxicology

The present work examined the effects of the n-butanol extract from the leaves of *Kalanchoe crenata* on the rat blood pressure and on the guinea pig papillary muscle contraction and action potential. When administered intravenously at the doses of 2, 5 and 10 mg/kg, the n-butanol extract of *K. crenata* leaves induced a significant transient fall in blood pressure and significantly reduced the cardiac rate for about 10 minutes. Concomitantly, the extract significantly increased the PR, QRS and QT intervals of the electrocardiogram (ECG). At the concentrations of 300 µg/ml and 1000 µg/ml, n-butanol extract was found to increase the amplitude of electrical contraction of papillary muscle by 137.6 and 223% respectively. When essayed on the ventricular myocardial cells action potential, the extract (100 µg/ml) significantly and time dependently delayed the repolarisation without affecting the amplitude. Indeed the 10%, 60% and 90% repolarisation times were respectively increased by 131.6%, 78.6% and 52.7%. The bradycardic effect of the n-butanol extract may result from the increase of the PR, QRS and QT intervals which are in accordance with the delay in action potential repolarisation observed in *in vitro* studies. The data obtained in the *in vitro* studies suggest that *K. crenata* possess potassium channel blockade properties that may account for its cardiac properties. **Key words:** *Kalanchoe crenata*, cardiovascular, Blood pressure, ECG, action potential Apoio Financeiro: The authors are very grateful to the DAAD and the TWAS for the respective award N° A/04/30012 and the grant N° 03-460/RG/BIO/AF/AC allocated, which gave us the opportunity to carry out this work at the Institute of Pharmacology and Toxicology of the Technical University of Munich in Germany and in the Laboratory of Animal Physiology at the University of Yaounde I in Cameroon.

04.030

Avaliação da atividade vasorrelaxante de *Tropaeolum majus* L. Gasparotto Junior, A.¹; Rattmann, Y. D.²; Stefanello, M. E. A.³; Kassuya, C. A. L.²; Marques, M. C. A.² ¹UNIPAR - Farmacologia; ²UFPR - Farmacologia; ³UFPR - Química

Introdução: *Tropaeolum majus* L. (Tropeaeaceae) é popularmente conhecido como “capuchinha” “chaguinha” ou “nastúrcio”. Na medicina tradicional suas folhas são utilizadas para o tratamento de diversas doenças, incluindo doenças cardiovasculares. Entretanto, em relação a sua atividade hipotensora, nenhum resultado tem sido publicado para justificar esta indicação etnobotânica. **Objetivo:** Avaliar o efeito vasorrelaxante do extrato hidroetanólico obtido das folhas de *T. majus* L. (HETM) em aorta isolada de ratos wistar ($n=6$). **Métodos:** Aortas torácicas de ratos Wistar machos (200-250g) foram preparadas para registro de tensão isométrica. Os anéis de aorta foram posicionados em cubas experimentais preenchidas com solução nutritiva (Krebs), a 37°C, aerada com carbogênio, tensão de 1g, para registro do tônus vascular. As preparações foram contraídas com 10µM de fenilefrina e expostas a concentrações cumulativas de HETM. A ação vascular de HETM foi avaliada em anéis com e sem endotélio. Este foi considerado íntegro quando o relaxamento induzido pela acetilcolina (10µM) foi superior a 80%. A remoção mecânica do endotélio foi confirmada pela ausência de relaxamento em resposta a acetilcolina. Os efeitos do HETM também foram avaliados em anéis com endotélio preservado pré-tratados por 15 minutos com L-NAME (100 µM), um bloqueador da óxido nítrico (NO) sintase. O papel do influxo de cálcio extracelular foi verificado utilizando uma solução de Krebs despolarizante (livre de cálcio – 60mM KCl e 1mM EGTA) a fim de promover uma curva contrátil cumulativa com diferentes concentrações de CaCl₂ (10µM-100mM). **Resultados:** Em anéis de aorta com endotélio preservado e contraídos por fenilefrina 1 µM, o HETM nas concentrações de 3, 4 e 5 mg/mL, promoveu relaxamento dependente da concentração (18,70±4,64%; 33,54±4,63%; 50,37±5,31%, respectivamente). O efeito vasorrelaxante do HETM não foi alterado significativamente na presença do L-NAME (10 µM) ou em anéis de aorta desprovidos de endotélio, indicando que o efeito do HETM não depende da via do NO. No entanto, a incubação prévia por 15 minutos com diferentes concentrações do HETM promoveu significativa redução da resposta contrátil obtida com concentrações cumulativas de CaCl₂ em anéis de aorta desprovidas de endotélio e mantidas em solução nutritiva livre de cálcio. A E_{max} do cálcio foi reduzida em 10±10%, 30±9% e 48±2%, após a incubação de 3, 4 e 5 mg/µL do extrato bruto hidroetanólico de *T. majus*. **Conclusão:** Este estudo demonstra que a planta *T. majus* possui um ou mais componentes, capaz(es) de causar vasorrelaxamento em anéis de aorta desprovidos e providos de endotélio. O efeito vasodilatador do HETM aparenta não ser dependente da liberação do NO, mas mediado pela redução do influxo extracelular de cálcio. Apoio Financeiro: UNIPAR e CAPES

04.031

Efeitos vasculares do peptídeo natriurético isolado do veneno da serpente *Crotalus durissus cascavella* em anel de aorta de ratos. Evangelista, J. S. A. M.¹; Morais, G.B.¹; Silveira, J. A. M.¹; Evangelista, J. J. F.²; Evangelista, I. L.¹; Sousa, C. M.³; Nascimento, N. R. F.¹; Toyama, M. H.⁴; Martins, A. M. C.⁵; Moraes, M. E. A.²; Monteiro, H. S. A.²¹UECE - Veterinária; ²UFC - Fisiologia e Farmacologia; ³UECE - Ciências Fisiológicas; ⁴UNICAMP - Biologia; ⁵UFC - Análises Clínicas e Toxicológicas

Introdução: O estudo dos venenos das serpentes tem motivado uma série de pesquisas que contribuem para a elucidação dos mecanismos envolvidos na fisiopatologia das lesões e na perspectiva de descobertas de ferramentas farmacológicas ou substâncias farmacologicamente ativas. Portanto, o estudo do Peptídeo Natriurético isolado do veneno da serpente *Crotalus durissus cascavella* (*NPcasca*) objetivou avaliar seus efeitos vasculares, visando a descoberta de substâncias com potencial diagnóstico ou terapêutico, determinando quando possível o mecanismo de ação. **Métodos:** Utilizaram-se ratos Wistar, machos, adultos (250-300 g). Estes foram sacrificados por deslocamento cervical, segmentos de 5 mm de anéis de aorta (com e sem endotélio) foram montados horizontalmente em banhos de 5mL de solução de Krebs-Henseleit aerada com mistura carbogênica. Os registros das alterações de tensão foram obtidos por um transdutor de força acoplado a um polígrafo de 4 canais. Após 1h de estabilização com lavagens a cada 15min., o anel de aorta foi contraído com Fenilefrina (PHE)(1mM) e foi registrado os efeitos do *NPcasca* nas concentrações de 10^{-11} M a 10^{-7} M. Realizou-se curvas em aortas pré-contraídas com solução despolarizante de K^+ (80 mM). Um conjunto de curvas concentração-resposta foi realizado na presença do Isatin (10 μ M), incubado por 30 min.. Os dados foram expressos em média \pm E.P.M e comparados pelo teste ANOVA seguido pelo teste Tukey. * $p < 0.05$ vs *NPcasca*-e⁺. **Resultados:** Observou-se um efeito relaxante vascular com o endotélio intacto (apenas $\pm 55\%$ de contração) e na presença de Isatin (apenas $\pm 60\%$ de contração). Utilizando a solução de K^+ evidenciou-se um aumento da contração da musculatura vascular ($\pm 90\%$ de contração). Nos experimentos com endotélio não íntegro registrou-se um aumento da contração ($\pm 95\%$ de contração). **Discussão:** Sugere-se que o efeito relaxante observado nos anéis de aorta com o endotélio intacto e na presença de Isatin é dependente do endotélio vascular e provavelmente de substâncias liberadas pelas células endoteliais que influenciam o efeito vasodilatador e conseqüentemente hipotensor do *NPcasca*. Este efeito relaxante, porém, não apresenta influência nos receptores de peptídeos natriuréticos. O aumento da contração da musculatura vascular utilizando uma solução despolarizante de K^+ e na ausência de endotélio sugere um provável envolvimento de canais de K^+ no mecanismo de ação do *NPcasca*. Apoio Financeiro: CNPq e FUNCAP.

04.032

Novo peptídeo isolado do veneno de *Tityus serrulatus* em modelo de rim isolado: um estudo preliminar. Alves, R. S.¹; Martins, R. D.²; Jorge, A. R. C.¹; Ximenes, R. M.¹; Norões, T. B. S.¹; Sousa, D. F.¹; Leite, C. A. V. G.¹; Queiroz, M. G. R.³; Toyama, M. H.⁴; Monteiro, H. S. A.¹ ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFPE - Nutrição; ³UFC - Análises Clínicas; ⁴UNICAMP - Biologia

Introdução: O veneno de *T. serrulatus* (TsV) ocasiona diversos acidentes em todo o país, com maior severidade em crianças. O veneno deste escorpião demonstrou elevação na pressão de perfusão em modelo de rim isolado de rato, sem alteração significativa de eletrólitos (Alves *et al.*, *Toxicon* 46, p. 271, 2005). O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos renais de um novo peptídeo de 3kDa, natriurético, isolado do veneno de *Tityus serrulatus*, na investigação de seu potencial na excreção de eletrólitos. **Métodos:** Seguindo a técnica descrita por Fonteles *et al.*, *Am. J. Physiol.* 244, p. 235, 1983, foram utilizados ratos Wistar machos (250-280g; n=6). O grupo foi tratado com o peptídeo isolado do veneno (TsP 0,1mg/mL) que foi adicionado aos 30 minutos de perfusão. Os resultados foram analisados por ANOVA e teste *t* de student. **Resultados:** Os resultados demonstraram ação máxima do peptídeo sobre a pressão de perfusão (TsP₃₀ = 107,8±0,99; TsP₁₂₀ = 157,3±10,23* mmHg), resistência vascular renal (TsP₃₀ = 4,57±0,08; TsP₁₂₀ = 6,71±0,52* mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹), fluxo urinário (TsP₃₀ = 0,12±0,01; TsP₁₂₀ = 0,50±0,05* mL.g⁻¹.min⁻¹) e ritmo de filtração glomerular (TsP₃₀ = 0,76±0,12; TsP₁₂₀ = 1,70±0,31* mL.g⁻¹.min⁻¹) aos 120 minutos. Em relação ao transporte de eletrólitos houve alteração na reabsorção de sódio (TsP₃₀ = 87,77±1,42; TsP₆₀ = 79,88±2,22*; TsP₉₀ = 79,72 ± 2,04*; TsP₁₂₀ = 71,84 ± 2,90*), potássio (TsP₃₀ = 76,04 ± 3,27; TsP₆₀ = 55,68 ± 7,24*; TsP₉₀ = 53,60 ± 9,03*; TsP₁₂₀ = 56,81 ± 6,46*) e cloreto (TsP₃₀ = 81,90 ± 3,68; TsP₁₂₀ = 69,02 ± 4,64*) durante a perfusão. **Discussão:** Diversas frações tóxicas vêm sendo isoladas do veneno de *Tityus serrulatus*, entretanto, menos de 1% dos peptídeos presentes no veneno são conhecidos (Possani *et al.*, *Eur. J. Biochem* 264(2), p. 287, 1999). Algumas destas toxinas já têm estabelecidas ações sobre canais iônicos de sódio (Kalapothakis & Chávez-Olortegui, *Toxicon* 35, p. 1523, 1997) e potássio (Marangoni *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, p. 1243, 1995). O peptídeo estudado neste trabalho foi isolado da tityustoxina, um polipeptídeo largamente estudado e principal constituinte do veneno escorpiônico. Os resultados com o veneno total não revelaram alteração eletrolítica significativa, entretanto, o peptídeo demonstrou potente ação na excreção de eletrólitos, além de efeitos pressóricos e glomerulares (contribuindo para os efeitos gerais induzidos pelo veneno de *T. serrulatus*), indicando que outros peptídeos presentes podem ter mascarado esse efeito no estudo anterior. Apoio Financeiro: CNPq

04.033

Avaliação da atividade vasorrelaxante de *Achillea millefolium* L. Gasparotto Junior, A.¹; Rattmann, Y. D.²; Lourenço, E. L.³; Kassuya, C. A. L.²; Marques, M. C. A.² ¹UNIPAR - Farmacologia; ²UFPR - Farmacologia; ³UNIPAR - Toxicologia

Introdução: A *Achillea millefolium* L. é nativa da Europa e cultivada domesticamente em todo o Brasil, sendo popularmente conhecida como mil-folhas, aquiléia, novalgina, atroveran, entre outras sinônimas. Caracteriza-se por ser uma espécie medicinal com ampla distribuição geográfica, sendo utilizada popularmente como antiinflamatória, analgésica, antiespasmódica e gastroprotetora. Na medicina tradicional a população comumente utiliza suas folhas e flores para o tratamento da hipertensão, entretanto, nenhum resultado de pesquisa tem sido publicado para justificar esta indicação etnobotânica. **Objetivo:** Avaliar o efeito vasorrelaxante do extrato hidroetanólico obtido das folhas de *A. millefolium* L. (HEAM) em aorta isolada de ratos wistar ($n=6$). **Métodos:** Aortas torácicas de ratos Wistar machos (200-250g) foram preparadas para registro de tensão isométrica. Os anéis de aorta foram posicionados em cubas experimentais preenchidas com solução nutritiva, a 37°C, aerada com carbogênio, tensão de 1g, para registro do tônus vascular. As preparações foram contraídas com 10µM de fenilefrina e expostas a concentrações cumulativas de HEAM. A ação vascular de HEAM foi avaliada em anéis com e sem endotélio. Este foi considerado íntegro quando o relaxamento induzido pela acetilcolina (10µM) foi superior a 80%. A remoção mecânica do endotélio foi confirmada pela ausência de relaxamento em resposta a acetilcolina. Os efeitos do HEAM também foram avaliados em anéis com endotélio preservado pré-tratados por 15 minutos com L-NAME (10 µM), um bloqueador da óxido nítrico (NO) sintase. **Resultados:** Em anéis de aorta com endotélio preservado e contraídos por fenilefrina 1 µM o HEAM nas concentrações de 3, 4 e 5 mg/mL, promoveu relaxamento dependente da concentração (13,35±5,20%; 32,53±7,28%; 51,40±7,86%, respectivamente). O efeito vasodilatador máximo do HEAM não foi alterado significativamente na presença do L-NAME (43,21±5,61%) ou em anéis de aorta desprovidos de endotélio (36,39±6,69%), indicando que o efeito do HEAM aparenta não depender da via do NO. **Conclusão:** Este estudo demonstra que a planta *A. millefolium* possui um ou mais componentes, capaz(es) de causar vasorrelaxamento em anéis de aorta desprovidos e providos de endotélio. O efeito vasodilatador do HETM aparenta não ser dependente da liberação do NO endotelial. Apoio Financeiro: UNIPAR e CAPES

04.034

Angiotensin II is involved in the initiation of hemodynamic and inflammatory response in sepsis. Pacheco, L. K.; Fernandes, D.; Sordi, R.; Assreuy, J. UFSC- Farmacologia

Introduction: Sepsis and septic shock are characterized by systemic vasodilatation, arterial hypotension and a high mortality rate. Angiotensin II is a powerful vasoconstrictor that induces the secretion of aldosterone and thereby the retention of sodium and water, which increases the circulating fluid volume and maintains normal blood pressure in hypotensive situations. Additionally, this peptide has been shown to have detrimental inflammatory and oxidative actions. The aim of the present study was to investigate the effects of losartan (LOS), a long-lasting and highly selective inhibitor of angiotensin II type 1 receptor (AT1R) during the course of sepsis. **Methods:** Sepsis was induced by cecal ligation and puncture (CLP) surgery in female Wistar rats. Losartan 0.25 mg/kg (LOS0.25) or 15 mg/kg (LOS15), sc, was injected 2 h or 8 h after the surgery. Twenty-four h after CLP procedure blood pressure, vasoconstrictive response to phenylephrine (Phe), lung myeloperoxidase (MPO) activity and plasma levels of urea, creatinine and nitrite/nitrate (NOx), were determined. **Results:** LOS15 injected 2 h after CLP procedure increased plasma creatinine (sham 0.65 ± 0.03 ; CLP $0.92 \pm 0.11^*$ and CLP/Los $1.53 \pm 0.25^{*\#}$ mg/dL, n=12) and urea (sham 54.5 ± 4.1 ; CLP $106.4 \pm 17.4^*$ and CLP/Los $201 \pm 22.9^{*\#}$ mg/dL, n=15). LOS0.25 2 h after CLP did not change these parameters. LOS15 exhibited a worsened hyporeactivity to Phe (30 nmol/kg), compared to CLP group (sham 41.1 ± 2.2 ; CLP $27.9 \pm 2.0^*$; CLP/Los $14.9 \pm 3.9^{*\#}$ mmHg, n=8). On the other hand, LOS0.25 improved the reactivity to Phe (sham 41.8 ± 1.7 ; CLP $22.1 \pm 1.8^*$; CLP/Los $36.3 \pm 4.5^{*\#}$, n=8). Additionally, LOS0.25 decreased MPO activity. LOS0.25 injected 8 h after CLP did not change any of the parameters. **Discussion:** CLP procedure increased plasma NOx, urea and creatinine, and induced hyporeactivity to vasoconstrictors, thus reproducing some important characteristics of clinical septic shock. Blockade of a fraction of angiotensin II AT1 receptors with low dosage of losartan improved both altered hemodynamics and organ damage signs induced by sepsis. However, full blockage of AT1R with high (and long-lasting) dose of losartan was detrimental to the host, suggesting that angiotensin II appears to be important for the host later in sepsis. Noteworthy, AT1R partial blockage early in sepsis was effective in modifying sepsis course, suggesting that angiotensin II seems to be critically involved in early sepsis signaling. Thus, proper handling of angiotensin system may provide a new therapeutic opportunity for sepsis treatment. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPESC ad PRONEX

04.035

Increased activity of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) induced by reactive oxygen species (ROS) in two-kidney one-clip (2K1C) hypertension. Castro, M. M.¹; Rizzi, E.¹; Rodrigues, G. J.²; Bendhack, L. M.²; Gerlach, R. F.³; Tanus-Santos, J. E.¹ ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FCFRP-USP; ³FORP-USP - Morfologia

Introduction: Altered activity of matrix metalloproteinases (MMPs) play an important role in the development of 2K1C hypertension, and in the structural and functional vascular changes associated with this model of hypertension. Oxidative stress may enhance MMP-2 expression and activity in vitro. We hypothesized that reactive oxygen species (ROS) can promote vascular dysfunction and remodeling in hypertension by an increase in MMP-2 activity. **Methods:** Hypertension was induced in male Wistar rats by clipping the right renal artery. Sham rats underwent the same surgical procedure, except for the placement of the artery clip. Rats were randomly assigned to one of six groups: 2K1C and sham rats (received water); 2K1C and sham rats (received tempol (18 mg/kg/day) and apocynin (25 mg/kg/day)), for 2 months, by gavage. Systolic blood pressure (SBP) was monitored weekly by tail-cuff plethysmography in conscious rats. Quantitative morphometry of structural changes in aortic wall were studied in hematoxylin/eosin stained sections. Aortic ROS levels were measured using dihydroethidine (DHE) by flow cytometry. MMP-2 activity was determined by gelatin zymography. **Results:** Tempol and apocynin significant attenuated the increases in SBP in hypertensive rats (181 ± 20.8 and 192 ± 17.6 mmHg versus 213 ± 18.2 , respectively; both $p < 0.05$), without producing effects in Sham rats ($p > 0.05$). Likewise, both antioxidants completely inhibited 2K1C-induced aortic ROS production (57.7 ± 8.3 and 60 ± 6.4 versus 84.7 ± 3.2 $\mu\text{mol/l}$, respectively). Tempol, but not apocynin ($p > 0.05$), prevented the increases in media thickness, and was associated with lower media/lumen and cross-sectional areas in hypertensive rats (all $p < 0.01$). While no significant changes were observed in sham groups, increased MMP-2 levels were found in the aortas of 2K1C rats ($p < 0.05$). Tempol, but not apocynin, significantly lowered MMP-2 levels in hypertensive rats ($p < 0.05$). **Discussion:** Reactive oxygen species can promote vascular alterations in renovascular hypertension, at least in part, by an increase in MMP-2 activity. Supported by: FAPESP, CNPq, CAPES.

04.036

Increased activity and expression of matrix metalloproteinases (MMP-2, -9 AND MMP-14) in the aorta of hypertensive rats. Castro, M. M.¹; Rizzi, E.¹; Tanus-Santos, J. E.¹; Gerlach, R. F.²
¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FORP - USP - Morfologia

Introduction: Vascular remodeling observed in hypertension is associated with increased activity of matrix metalloproteinases (MMPs). We examined whether increased MMP-2, -9 and MMP-14 expression/activity in aortic vessels is related to renovascular hypertension. We have also studied the localization of these MMPs in aortic vessels of 2-kidney, 1-clip (2K1C) hypertensive rats. **Methods:** Hypertension was induced in male Wistar rats by clipping the right renal artery. Sham rats underwent the same surgical procedure, except for the placement of the artery clip. Rats were randomly assigned to one of four groups: 2K1C and sham rats (received water); 2K1C + doxy and sham + doxy rats (received 30 mg/kg/day of doxycycline for 2 months). Systolic blood pressure (SBP) was monitored weekly. MMPs were detected in the intima and media layers of the artery wall by immunohistochemistry and in-situ zymography. Net MMP activity was also assessed with a gelatinase activity assay. **Results:** Doxycycline significantly attenuated the increases in SBP in hypertensive rats (215 ± 8 vs. 167 ± 13 mmHg in 2K1C rats and 2K1C + doxy rats, respectively; $P < 0.01$), without producing effects in Sham + doxy rats ($p > 0.05$). While no significant changes were observed in sham and sham + doxy, 2K1C rats presented higher aortic net MMPs activities ($p < 0.05$). Treatment with doxycycline significantly lowered MMP activities in 2K1C + doxy group compared with those found in 2K1C rats ($p < 0.05$). *In situ* zymography and immunohistochemistry showed increased MMP (2, -9 and -14) activity and expression in media and endothelium of 2K1C aortas ($p < 0.01$), compared with sham. Doxycycline intake blunted these effects in hypertensive aortas ($p < 0.01$). **Discussion:** Increased expression and activity of these MMPs may contribute to development and/or progression of renovascular hypertension. **Supported by:** FAPESP, CNPq, CAPES. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq, CAPES.

04.037

Heparin antagonize cardiotoxicity effect of the *Bothrops jararacussu* venom. Ricardo, H. D.¹; Melo, P. A.¹; El-Kik, C. Z.¹; Calil-Elias, S.²; Martins, V. V.²; Melo, P. A.¹ ¹UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica ²UFF - Farmácia

The cell damage caused by *Bothrops* species are not well understood and poorly neutralized by antivenoms. We investigated the *in vitro* cardiotoxic activity of *Bothrops jararacussu* crude venom and the antivenom effect of a heparin in isolated rat hearts. Cardiotoxicity was evaluated in a Langendorff preparation with adult Wistar rat heart bathed and continuously perfused (2-5 mL/min) with Ringer solution at 37°C. Heart tension was recorded continuously with a transducer coupled in a 7D Grass Polygraph, as well as the electrocardiogram (EKG). In the isolated heart preparation, *B. jararacussu* venom in concentrations (2,5; 5; 10 µg/mL ;n=4) induced a progressive negative inotropic effect concentration-dependent. In 60 minutes the concentration 10 µg/mL heart tension down to 0% after 15 min, increasing perfusion press and alteration EKG waves, increasing PR interval, decreasing QRS amplitude and decreasing heart rate. The addition of heparin 30; 100; 300 µg/ml decreased in concentration-dependent way the venom cardiotoxic effect in the heart tension reaching 100% of the inhibition with 300 µg/ml, perfusion press and EKG waves changes. The heart was then removed from the Langendorff apparatus; both the auricles and root of aorta were excised out. The ventricles were sliced into uniform sections of 2-3 mm thickness. The slices were incubated in 1% triphenyl tetrazolium chloride (TTC) at 37°C (pH 7.4) for 4 min. At the end of the incubation period, the heart slice was placed in formaldehyde solution, which not only fixes the tissue but also enhances the color contrast. The normal myocardium was stained brick red, while the infarcted portion remained unstained. Heparin was able to antagonize completely the cardiac arrest and the changes in EKG induced by *B. Jararacussu* crude venom in this isolated preparation. **Bibliographic references:** Hamley, E. J.; *J P-London*; 1959* Mittleman." *Clinical Research*;1975*Harvey, A. L.; *Toxicon*;1983* Melo, P. A.,*Toxicon*; 1993* Sifuentes D. N. ;*Toxicon*;2008. Apoio Financeiro: Financiador: CAPES, CNPq, PRONEX e FAPERJ

04.038

Effects of hypertension and age on salivary biochemical parameters. Costa, L. F.¹; Antoniali, C.²; Picco, D. C. R.²; Delbem, A. C. B.¹ ¹UNESP - Odontologia Infantil e Social; ²UNESP - Ciências Básicas

Introduction: Saliva plays an important role in the maintenance of a healthy oral environment. Hypertension and aging could interfere with salivary activity, leading to systemic and oral diseases. **Objective:** We have studied the effects of aging and hypertension on biochemical parameters of saliva. **Materials and Methods:** Rats (n=10) with 4(P) and 12-16(Y) weeks, normotensive (W, 108 ± 3 mmHg) and hypertensive (SHR, 161 ± 4 mmHg) had the salivary flow (SF) stimulated by pilocarpine (5mg/kg) during 15 min. The salivary pH was measured with specific electrode. The salivary buffer capacity (BC) was calculated according to the volume of lactic acid spent to reduce the salivary pH to 4,0. The concentration of fluoride ([F]) and calcium ([Ca]) was measured using specific electrode connected to a digital ion-analyzer previously calibrated with standard solutions. The results were compared by ANOVA ($p < 0,05$). **Results:** The SF of SHR (P: $0,015 \pm 0,003$; Y: $0,034 \pm 0,005$ mL/min) was lower than W (P: $0,023 \pm 0,002$; Y: $0,095 \pm 0,007$), independently of age. There was no difference on salivary pH between the groups. The BC of W (P: $47,7 \pm 3,6$; Y: $52,25 \pm 4,2$ mL) didn't alter with aging, and it was the same of YSHR ($43,2 \pm 1,7$), however BC of PSHR ($35,9 \pm 2,2$) was significantly reduced. Aging increased the [F] on W saliva (P: $0,015 \pm 0,001$; Y: $0,053 \pm 0,007$ mg/mL), but to SHR, [F] was not different between groups (P: $0,011 \pm 0,001$; Y: $0,022 \pm 0,005$). Aging also increased the [Ca] on W (P: $4,9 \pm 0,6$; Y: $30,9 \pm 5$ mg/mL), there was no difference of [Ca] on SHR saliva (P: $3,8 \pm 0,45$; Y: $4,9 \pm 0,4$ mg/mL). **Discussion:** This data supports other studies that showed decreased SF on SHR stimulated either by muscarinic or adrenergic agonist, regardless of age. The BC is responsible for rapid neutralization of acids, an important caries-protective factor, and in this study suggests that SHR pups are the most susceptible group to carie. As salivary fluoride originates from the water and feeding, our data shows that Wistar's development is associated with higher absorption of fluoride. Therefore, development may not affect the fluoride absorption on SHR. The saliva calcium concentration reflects the concentration of that ion in the serum. Our results show that age increases the saliva calcium concentration in Wistar rats, which is not observed in SHR. It has been demonstrated that, in SHR, hypertension is followed by a reduction in ionized serum calcium homeostasis. In conclusion, aging benefits the biochemical parameters of saliva in the normotensive rats. However, it is interesting to note that all parameters were reduced by hypertension and only BC was altered by age in SHR group. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq.

04.039

Pro-inflammatory state in metabolic syndrome patients. Gonçalves, F. M.¹; Jacob Ferreira, A. L. B.¹; Gomes, V. A.¹; Tanus-Santos, J. E.²; Gerlach, R. F.³; Casella-Filho, A.⁴ ¹FCM-UNICAMP - Farmacologia; ²FMRP-USP - Farmacologia; ³FORP-USP - Morfologia; ⁴INCOR-FMUSP

Background: The metabolic syndrome (MS) is considered a state of chronic inflammation accompanied of endothelial dysfunction causing an increased incidence of ischemic cardiovascular events and high mortality. This disorder represented by a series of cardiovascular risk factors usually related to the central deposition of fat and resistance to insulin. The MS is related to the increase in blood circulation of inflammatory markers, featuring a state of subclinical chronic inflammation. Little information exists about the level of Matrix Metalloproteinases (MMPs) and the level of inflammatory markers in patients with MS. The circulating MMP-9 levels have been valued as a marker of cardiovascular risk, and the expression/activity of this enzyme is modulated by oxidative stress. The aim of this study was investigate the levels of MMPs and the levels of inflammatory markers in patients with MS.

Methods: We studied 50 patients (age range: 18-80 years) divided in two groups: control (n = 25) and patients with metabolic syndrome (n= 25). The components of the MS considered in this study as risk factors were: Abdominal obesity by waist circumference (men > 102 cm and women > 88 cm), Triglycerides Levels ≥ 150 mg / dL, HDL Cholesterol Levels (men <40 mg / dL and women <50 mg / dL), Blood pressure ≥ 130 mm Hg or ≥ 85 mmHg and Glycemia of fasting ≥ 110 mg / dL. Plasma from venous blood collected into EDTA tubes was stored -70° C until assayed for sVCAM-1, P-selectin and TIMP-2 levels by ELISA and MMP-9 and MMP-2 levels by Zymographic. P values <0,05 were considered statistically significant. **Results:** We found no differences in MMP-2 and TIMP-2 levels among patients with MS ($5,733 \pm 0,3317$ and 394700 ± 22710 pg/ml, respectively) and controls ($5,428 \pm 0,4255$ and 348700 ± 34180 pg/ml, respectively; $P > 0,05$). However, the levels of MMP-9, sVCAM-1 and P-selectin were higher in patients with MS ($7,235 \pm 1,211$, $465,1 \pm 56,11$ ng/ml, $26,14 \pm 6,558$ ng/ml, respectively) compared to controls ($4,190 \pm 0,6698$, $315,0 \pm 14,34$ ng/ml, $12,38 \pm 1,812$ ng/ml, respectively; $P < 0,05$).

Discussion: While no differences were found in MMP-2 and TIMP-2 levels among groups, we found higher levels of MMP-9, sVCAM-1 and P-selectin in patients with MS than in the control group. This finding is consistent with the possibility that an increase in levels of sVCAM and P-selectin is due to the subclinic inflammatory state in patients with MS. **References:** Eckel, R.H. et al., *Lancet*, 365:1415, (2005). Grundy, S.M. et al., *Journal of American Heart Association*, 112:2735, (2005). Apoio Financeiro: FAPESP and CNPq

04.040

Sepsis-induced reduction in β -adrenergic response and the effect of selective neuronal nitric oxide synthase (NOS-1) inhibition. Favero, A. M.¹; Nardi, G. M.²; Assreuy, J.¹ ¹UFSC - Farmacologia; ²UNOESC-ACBS

Introduction: Septic shock is characterized by low blood pressure, accompanied by vascular dysfunction and hyporeactivity to vasoconstrictors. Although the loss of vascular alpha-adrenergic response in sepsis is well known, few studies looked on the consequences of sepsis on the vascular beta-adrenergic response. Therefore, the objective of this work was to evaluate the vascular response to isoprenaline (ISO), a non-selective β_1, β_2 agonist and to fenoterol (FNT), a selective β_2 -adrenergic agonist during severe sepsis. In addition, we studied the consequences of the selective inhibition of NOS-1 on the response to both agonists. **Methods:** The experimental consisted of Wistar female rats submitted to cecal and ligation puncture (CLP) and sham-operated (SHO) rats, as controls. Vascular reactivity was evaluated by three increasing doses (0, 1, 1 and 10 nmol/kg) of ISO or FNT 6, 12 and 24 hours after CLP surgery. The selective blockage of NOS-1 was attained by the use of 7-NI (5 mg/kg; s.c.). **Results:** At low dose (0.1 nmol/kg) ISO caused a hypotension of -22.3 ± 5.4 mmHg in SHO while causing increases in BP of 12.7 ± 4.0 , 25.0 ± 6.2 and 0.75 mmHg in CLP group 6, 12 and 24 h after surgery, respectively. Doses of 1 and 10 nmol/kg induced reductions in BP of -6.4 ± 8.3 and -30.9 ± 5.5 mmHg 6 hours after CLP; -3.6 ± 13.5 and -33.2 ± 3.4 mmHg 12 hours and -19.2 ± 2.8 and -33.1 ± 3.5 mmHg 24 hours after CLP. Twenty min after 7-NI injection, ISO lowest dose had its effects increased (-20.8 ± 6.7 , -27.3 ± 5.7 and -27.9 ± 4.7 mmHg 6, 12 and 24 hours after CLP surgery, respectively). 7-NI did not interfere with the hypotensive effect of the higher ISO doses. FNT (0.1 nmol/kg) reduced BP in CLP animals 6 hours after surgery (-11 ± 4.5 mmHg) and this effect was promptly increased by 7-NI (-21.6 ± 1.3 mmHg). The doses of 1 and 10 nmol/kg also reduced BP, but 7-NI did not changed FNT effect. **Discussion:** Our results demonstrate the loss in vascular response during sepsis does not affect the alpha component but the beta as well. This may indicate that there is a widespread loss in the adrenergic response during sepsis. The loss seems to affect the β_2 response but the β_1 component also was affected. In addition our results point out that NOS-1-derived NO seems to play a relevant role on the loss of beta-adrenergic component, mainly when low doses of ISO and FNT were used. Apoio Financeiro: Financial support: UNOESC, FAPESC, CNPq, PRONEX and CAPES

04.041

Inhibition of platelet aggregation in septic shock correlates with nitrotyrosine formation. Pires, M. E. L.; Casarin, A. L.; Cardelli, N. J. A.; Antunes, E.; Marcondes, S. UNICAMP - Farmacologia

Introduction: Septic shock is a systemic inflammatory process mostly caused by Gram-negative bacteria. One of the earliest events in sepsis is a marked decrease in the circulating platelet counts. Septic shock triggers the production of various substances including reactive oxygen species (ROS). However, little is known on the role of ROS in modulating platelet functions under septic shock. Therefore, in this study we determined the correlation between platelet aggregation and ROS formation in lipopolysaccharide (LPS)-treated rats. **Methods:** Male Wistar rats (250-320 g) were injected with saline or LPS (1 mg/kg). At 2 to 72 h thereafter, blood was collected in 3.8% sodium citrate. Platelet-rich plasma (PRP) was obtained after centrifugation of whole blood at 200g for 15 min. The number of platelet was adjusted to 2×10^8 plat/ml. Aggregation assay was performed using an aggregometer. Platelets were activated by ADP (0.5-50 mM). Nitrated proteins were analyzed by immunoblotting. **Results:** Thrombocytopenia was observed at 4 to 24 h after LPS injection compared with saline group (at 8h: $686,2 \pm 38$ and $238,5 \pm 14,4 \times 10^6$ platelets/ml for control and LPS, respectively). Platelet aggregation induced by ADP (5 mM) was time-dependently reduced by LPS treatment at 4 to 8 h after LPS injection (42%, 69% and 100% reduction for 4, 6 and 8 h, respectively). At 72 h, ADP-induced aggregation was similar to the control group. Western blotting analysis indicated the presence of nitrotyrosine immunoreactive bands in platelets of control rats, which were intensified about 1.5 and 3-times in the LPS-injected rats after 4 and 8 h, respectively. The signal of immunoreactive bands at 48h was similar to the control samples. **Conclusion:** Our data indicate strong correlation between nitration and inhibition of ADP-induced platelet aggregation in rats 4 to 48h after LPS-treatment. Nitrotyrosine residues are the footprints of peroxynitrite formation, which may have important roles in the inhibition of platelet aggregation under sepsis conditions. Apoio Financeiro: CAPES

04.042

Acetylcholine induces relaxation dependent on nitric oxide synthase and cyclooxygenase during sepsis. Araújo, A. V.¹; Ferezin, C. Z.²; Bonaventura, D.²; Lunardi, C. N.²; Rodrigues, G. J.¹; Vercesi, J. A.²; Bendhack, L. M.²¹FMRP- USP - Farmacologia; ²FCFRP-USP - Física e Química

Introduction: Sepsis is the Systemic Inflammatory Response Syndrome to infection. Many studies have shown a hyporesponsiveness to vasoconstrictor agents during sepsis and a systemic hypotension in septic shock that have been mainly attributed to nitric oxide (NO). **Aim:** The present study aimed to investigate the contribution of the nitric oxide synthase (NOS) isoforms on the acetylcholine (ACh) and sodium nitroprusside (SNP)-induced vasodilatation and the possible changes on these isoforms during sepsis. **Methods:** Sepsis was induced by cecal ligation and perforation (CLP). Mean arterial pressure (MAP) was measured until the rat death. ACh and SNP-induced relaxation were studied in isolated aortic rings from CLP and sham-operated rats (SO), 2 hours post-CLP. NO production was measured using the NO-sensitive fluorescent probe DAF-2DA, in the presence of the superoxide scavenger TIRON by confocal microscopy. **Results:** MAP was progressively reduced after CLP and the hypotension was more severe 6 hours after CLP (basal 95.7 ± 4.3 ; 6h 64.6 ± 3.4 mmHg, $p < 0.001$). ACh-induced relaxation was similar in CLP and SO aortas. The inhibition of cyclooxygenase (COX) with indomethacin did not alter the ACh-induced relaxation, but after incubation with the NOS inhibitors, the relaxation was greater in CLP (Emax: L-NAME: $12.70 \pm 1.06\%$; L-NNA $27.97 \pm 1.46\%$; 7-NI $82.20 \pm 3.40\%$) than in SO (Emax: L-NAME: $3.73 \pm 3.25\%$; L-NNA $21.15 \pm 5.28\%$; 7-NI $60.9 \pm 9.55\%$). All these Emax values were lower than in control experiments in the absence of inhibitors (SO, Emax $98.56 \pm 1.84\%$; CLP, Emax $101.87 \pm 2.32\%$) However, the combination of the inhibitors of COX and NOS normalized the response (SO, Emax: L-NAME $4.6 \pm 1.0\%$; L-NNA $6.8 \pm 3.1\%$; 7-NI $45.1 \pm 4.4\%$; CLP, Emax: L-NAME $4.9 \pm 2.1\%$; L-NNA $3.2 \pm 2.3\%$; 7-NI $49.4 \pm 4.9\%$). The inhibition of iNOS with 1400W did not alter the response induced by ACh. SNP-induced relaxation was not altered by sepsis. ACh-induced NO production was lower on the endothelial cells from CLP than on SO rats, even in the presence of TIRON (DIF: SO $81.3 \pm 6.6\%$ and CLP $54.1 \pm 2.1\%$, $p < 0.01$). **Discussion:** Our results show that during sepsis, ACh induces NOS-dependent and COX-dependent relaxation.

04.043

Blockade of potassium channels and antibiotic treatment improves survival in experimental sepsis. Bóf, E. R.; Pacheco, L. K.; Sordi, R.; Assreuy, J. UFSC - Farmacologia

Introduction: Sepsis is a severe condition in which an infection associated with a systemic inflammatory process causes high mortality. In the clinical setting, late diagnosis of sepsis is associated with profound changes (inflammatory, hemodynamic, metabolic, etc) in the host condition thereby decreasing antibiotic effectiveness. We have demonstrated that potassium channel (KC) blockade improves the cardiovascular condition of the host and decreases the early mortality of sepsis. However, animals eventually die, probably due to overwhelming infection. Therefore, we reasoned whether KC blockade may synergize with antibiotics in mouse sepsis. **Methods:** Sepsis was induced by cecal ligation and puncture (CLP) in female Swiss mice. Control group was sham-operated animals (SHO). All animals received 30 mL/kg of warmed saline at the end of the surgery. Antibiotic (Pentabiótico[®], Fort Dodge Saúde Animal, Campinas, SP, a mix of benzathine benzylpenicillin, procaine benzylpenicillin, potassium benzylpenicillin, dihydrostreptomycin and streptomycin, 200 mg/kg, i.m.) or tetraethylammonium, a non-selective KC blocker (TEA, 100 µmol/kg, s.c.) were administered alone or together at different times after sepsis induction. Mortality was evaluated 12, 18, 24, 36, 48, 60 and 72 hours after CLP. **Results:** CLP induced an overall mortality of 75-100% 36-48 hours after surgery. Treatment with antibiotic 12 hours after CLP did not change the mortality, when compared to the septic group. Mortality of septic animals treated with TEA was the same of CLP group. When antibiotic and TEA were given together 12 hours after sepsis, a considerable improvement was observed since 50% of animals were alive 72 hours after CLP. Survival was 100% in SHO groups treated with antibiotic and/or TEA. **Discussion:** In human sepsis, antibiotic effectiveness is reduced by the previous derangement, mainly cardiovascular, in host condition. Thus, organ failure takes place before antibiotics can control the infection. Our results suggest that, provided the cardiovascular failure is delayed by KC blockade, the effectiveness of antibiotic increases dramatically. The point illustrated here is that since sepsis diagnosis in the clinical setting is frequently made when it is too late for the best efficacy of antibiotics, proper control of cardiovascular failure may be an interesting option for reducing mortality in sepsis. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPESC ad PRONEX

04.044

Effects of intravenous administration of LPS on platelet adhesion and aggregation. Casarin, A. L.; Pires, M. E. L.; Antunes, E.; Marcondes, S. ¹UNICAMP - Farmacologia

Introduction: Lipopolysaccharide is a component of the outer membrane of Gram negative bacteria and has a pivotal role in inducing Gram negative sepsis. Cardiovascular depression and systemic inflammatory response in sepsis often leads to multiple organ dysfunction. Platelets are believed to take part in the pathophysiology of sepsis, but data are still conflicting. Therefore, in the present work we decided to study the effects of intravenous administration of LPS in the ex-vivo platelet aggregation and adhesion. **Methods:** Male Wistar rats (250-320 g) were injected i.p. with saline or LPS (from *E. coli*, 1 mg/kg). At 2 to 72h thereafter, blood was collected in ACD-C (9:1 v/v). Platelet-rich plasma (PRP) was obtained by centrifugation of whole blood at 200 g for 15 min. The platelets were washed using citrated buffer (pH 6.0) and the number was adjusted to 2×10^8 plat/ml. Aggregation assay was performed using an aggregometer, whereas platelet adhesion was evaluated using fibrinogen-coated 96-well microtiter plates. Platelets were activated by ADP (10 mM) for the aggregation and adhesion assays. **Results:** At 4 to 12 h after LPS injection, the ADP (10 mM)-induced washed platelet aggregation was significantly reduced (29%, 83% and 60% reduction for 4, 6 and 12 h, respectively). The response returned to control values at 48 h after LPS injection. Spontaneous adhesion of platelets to fibrinogen-coated plates was not modified after LPS-treatment in any time studied (at 2 h: $7.5 \pm 1.0\%$ and $6.8 \pm 0.6\%$, for control and LPS, respectively). In contrast, in ADP (10 mM)-stimulated platelets, LPS significantly reduced platelet adhesion (114 ± 5 and $77 \pm 14\%$ for control and LPS, respectively; $p < 0.05$). This inhibitory effect of platelet-activated adhesion by LPS was maintained up to 72h ($114 \pm 5\%$ and $67 \pm 8\%$ for control and LPS, respectively; $p < 0.05$). **Discussion:** Our results showed that intravenous injection of rats with LPS inhibits both ex-vivo platelet-activated adhesion and aggregation. Whether this inhibition contributes to sepsis pathophysiology is under current investigation. Apoio Financeiro: CAPES

04.045

Determinação e caracterização da atividade vasodilatadora de frações laticíferas das plantas *Plumeria rubra* e *Calotropis procera* na aorta isolada de rato. Madeira, S. V. F.¹; Santos, A. T. S.¹; Araújo, E. S.²; Costa-Lotufo, L. V.¹; Pessoa, C. O.³; Moraes, M. E. A.¹; Moraes, M. O.¹; Ramos, M. V.²¹UFC - Fisiologia e Farmacologia; ²UFC - Bioquímica e Biologia Molecular

Introdução: O látex da *Plumeria rubra* (Pr) e da *Calotropis procera* (Cp) é produzido e armazenado em canais denominados laticíferos, que pode ser coletado quando as plantas são injuriadas. Muitas atividades farmacológicas relevantes têm sido descritas nestes materiais, incluindo antiinflamatória, anticâncer e antinociceptiva. Este trabalho teve como objetivo avaliar se compostos presentes em seus fluidos laticíferos apresentam atividade vasodilatadora na aorta torácica de rato e, em um segundo momento, caracterizar o seu possível mecanismo de ação. **Materiais e Métodos:** Ratos machos Wistar (250 - 300 g), provenientes do Biotério Central da UFC, foram sacrificados por deslocamento cervical e a aorta torácica removida e dissecada. Os anéis da aorta (4 - 5 mm) foram montados em câmeras orgânicas, contendo solução de Krebs e aerados com carbogênio a 37 °C, para a medida de variações na tensão isométrica. O látex obtido de ambas as plantas, Pr e Cp, foi fracionado por meio de diálise e centrifugado. Diferentes frações denominadas de proteínas do látex (PL) e fração dialisada (FD) foram obtidas. Estas frações, PrPL, PrFD, CpPL e CpFD (0,3; 1; 3; 10; 30, 100 e 300 µg/mL) foram avaliadas quanto a atividade vasodilatadora em anéis de aorta de ratos pré-contraindidos com fenilefrina (Phe; 10^{-8} - 3×10^{-8} M). As frações de Pr tiveram, ainda, a sua atividade vasodilatadora caracterizada com o L-NAME (100 µM), um inibidor da eNOS. Em todos os experimentos a acetilcolina (ACh; 10^{-8} - 10^{-5} M) foi utilizada para verificar a integridade do endotélio. **Resultados e Discussão:** As frações PrPL e PrFD apresentaram atividade vasodilatadora semelhante, exceto na concentração de 300 µg/mL, onde a PrFD ($71,5 \pm 16,5$ %, n = 8) apresentou uma maior atividade comparada à PrPL (38 ± 8 %, n = 8). As respostas vasodilatadoras das frações PrPL, PrFD e ACh foram abolidas em preparações tratadas com L-NAME (n = 3). As frações obtidas a partir da Cp (CpPL e CpFD) não apresentaram atividade vasodilatadora. **Conclusão:** As frações obtidas de *C. procera* não apresentaram efeito relaxador na musculatura lisa vascular. As frações PrPL e PrFD apresentaram atividade vasodilatadora em anéis da aorta de rato e esta parece ser mediada por NO. Apoio Financeiro: CNPq, FUNCAP, FINEP, IFS e InCB.

04.046

Estudo comparativo da atividade vasodilatadora de diferentes frações obtidas de um extrato aquoso da planta *Alpinia zerumbet* na aorta isolada de rato. Forte, A. J. V.; Madeira, S. V. F.; Santana, A. P. M.; Jamacuru, F. V. F.; Costa-Lotufo, L. V.; Moraes, M. E. A.; Moraes, M. O. UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: Estudos recentes, realizados no LFE da UFC, mostraram pela primeira vez que o extrato aquoso da planta *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burtt. et Smith (EAAz), conhecida popularmente como colônia, apresenta atividade vasodilatadora na aorta torácica isolada de rato. Objetivando encontrar o princípio ativo desta planta, o EAAz foi fracionado com diferentes solventes e a atividade vasodilatadora das frações foi avaliada em anéis da aorta torácica isolada de rato. Adicionalmente, o mecanismo de ação da fração acetato de etila obtida a partir do EAAz foi caracterizado. **Materiais e métodos:** Ratos machos Wistar (250 a 300 g), provenientes do biotério da UFC, foram sacrificados por deslocamento cervical e a aorta torácica removida e dissecada. Os anéis da aorta (4 a 5 mm) foram montados em câmeras orgânicas, contendo solução de Krebs, aeradas com carbogênio e mantidas a 37°C, para a medida de variações na tensão isométrica. A integridade do endotélio foi avaliada utilizando-se a acetilcolina (ACh; 10^{-5} M) e, posteriormente, o EAAz e as frações obtidas do EAAz, hexânica (AzHx), acetato de etila (AzAe), diclorometano (AzDc) (0,15; 0,5; 1,5; 5; 15 e 50 μ g/mL) foram testadas em preparações contraídas com fenilefrina (Phe; 10^{-8} – 3×10^{-8} M). A fração AzAm, ACh e nitroprussiato de sódio (SNP; 10^{-8} M) foram testados em preparações desprovidas de endotélio e tratadas com L-NAME (100 μ M), caribdotoxina (Chtx; 100 nM) mais apamina (100 nM), ODQ (30 μ M), catalase (500 U/mL) e superóxido dismutase (SOD; 500 U/mL). **Resultados e discussão:** O EAAz e as frações AzHx e AzAe foram capazes de relaxar, significativamente, a aorta torácica isolada de rato, apresentando os respectivos EC_{50} 30,120, 11,15 e 8,862 (n = 6, para cada grupo). Entretanto, a fração AzDc não apresentou atividade vasodilatadora. Tendo em vista, que a fração AzAe apresentou uma maior potência, a sua resposta vasodilatadora foi caracterizada. A atividade vasodilatadora da fração AzAe foi abolida em preparações desprovidas de endotélio e tratados com L-NAME (n = 6) e ODQ (n = 6). Entretanto, o efeito vasodilatador da fração AzAe permaneceu inalterado após tratamento com Chtx mais apamina, catalase e SOD na aorta torácica de rato (n = 6, para cada grupo). **Conclusão:** De acordo com nossos resultados, a fração AzAe apresentou uma maior potência na sua atividade vasodilatadora comparada ao EAAz. Este dado sugere que a fração AzAe, possivelmente, contém os princípios ativos responsáveis pela atividade vasodilatadora do EAAz. Adicionalmente, concluímos que a atividade vasodilatadora produzida pela AzAe na aorta torácica de rato é dependente do endotélio e via NO-GMPc. Apoio Financeiro: Apoio financeiro: CNPq, FUNCAP, FINEP e InCB.

04.047

Determinação e caracterização da atividade vasodilatadora de um extrato aquoso da planta *Alpinia zerumbet* na aorta isolada de rato. Rocha, H. G.; Madeira, S. V. F.; Santos, A. T. de S.; Santana, A. P. M.; Costa-Lotufo, L. V.; Moraes, M. E. A.; Moraes, M. O. ¹UFC - Fisiologia e Farmacologia

Introdução: A planta *Alpinia zerumbet* (Pers.) Burt. et Smith é conhecida, popularmente, como colônia e vem sendo utilizada, na medicina popular, para o tratamento de várias doenças, incluindo a hipertensão. Baseado no uso popular desta planta, o presente estudo teve como objetivo de verificar se o extrato aquoso da planta *Alpinia zerumbet* (EAAz) apresenta atividade vasodilatadora em anéis da aorta torácica de rato isolada e, em um segundo momento, elucidar o seu mecanismo de ação. **Materiais e métodos:** Ratos machos Wistar (250 a 300 g), provenientes do biotério da UFC, foram sacrificados por deslocamento cervical e a aorta torácica removida e dissecada. Os anéis da aorta (4 a 5 mm) foram montados em câmeras orgânicas, contendo solução de Krebs e aerados com carbogênio a 37°C, para a medida de variações na tensão isométrica. O endotélio dos anéis da aorta foi removido mecanicamente com objetivo de estudar o seu envolvimento no efeito vasodilatador do EAAz. Para estudar o envolvimento do óxido nítrico (NO), canais de potássio e GMPc, as preparações foram tratadas, respectivamente, com L-NAME (100 µM), caribdotoxina (Chtx; 100 nM) mais apamina (100 nM) e ODQ (30 µM). O efeito vasodilatador do EAAz (0,15; 0,5; 1,5; 5; 15 e 50 µg/mL), acetilcolina (ACh; 10⁻⁸ – 10⁻⁵ M) e nitroprussiato de sódio (SNP; 10⁻⁸ M) foram avaliados em aorta de ratos pré-contraída com fenilefrina (Phe; 10⁻⁸ - 3x10⁻⁸ M), antes e após tratamento com os inibidores. **Resultados e discussão:** O EAAz apresentou efeito vasodilatador com EC₅₀ de 22,005 µg/mL (n = 6). As respostas vasodilatadoras da ACh, utilizada como controle, e EAAz foram abolidas em preparações desprovidas de endotélio e tratados com L-NAME (n = 6) e ODQ (n = 6). O SNP foi capaz de relaxar as preparações desprovidas de endotélio, confirmando, assim, a integridade do músculo liso. Entretanto, o efeito vasodilatador do EAAz permaneceu inalterado após tratamento com Chtx e apamina na aorta torácica de rato (n = 6, para cada grupo). **Conclusão:** O presente estudo mostra, pela primeira vez, que o EAAz na aorta torácica de rato apresenta atividade vasodilatadora dependente do endotélio e via NO-GMPc. Apoio Financeiro: CNPq, FUNCAP, FINEP e InCB.

04.048
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.049

Efeitos do disseleneto de difenila (DD) sobre parâmetros bioquímicos e marcadores de estresse oxidativo em camundongos *knockout* para o receptor de lipoproteínas de baixa densidade (LDLr *-/-*) submetidos à uma dieta hipercolesterolêmica (DH). Hort, M. A.¹; Oliveira, J.²; Netto, P. M.¹; Bem, A. F.²; Ribeiro-Do-Valle, R. M.¹ ¹UFSC- Farmacologia; ²UFSC- Bioquímica

Introdução: O disseleneto de difenila (DD) é um composto orgânico de selênio, que apresenta importantes propriedades antioxidantes pelo fato de atuar como mimético da enzima glutathione peroxidase. Diversas propriedades farmacológicas deste composto foram descritas, como atividades antiinflamatória, antinociceptiva, anti-úlceras, neuroprotetora e antioxidante. Este trabalho teve por objetivo investigar o efeito do DD sobre a dislipidemia e indicadores de estresse oxidativo em um modelo experimental de aterosclerose. **Métodos:** Camundongos machos C57BL/6 (LDLr *-/-*) foram divididos em 5 grupos (n=5-8): CSDN (controle com Dieta Normal- DN); CCDH (controle com DH); DD0,1 (DD 0,1 mg/kg, v.o. + DH); DD1 (DD 1 mg/kg, v.o. + DH); e DDDN (DD 1 mg/kg, v.o. + DN). Após 30 dias de tratamento foram avaliados: peso, ingesta alimentar, grau de dislipidemia e marcadores de estresse oxidativo: lipoperoxidação (avaliada pela medida de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico - TBARS) e SH Não-Protéico (NPSH) em fígado, cérebro e eritrócitos. **Resultados:** A dieta hipercolesterolemica aumentou significativamente a razão LDL +VLDL/HDL no sangue dos animais LDLr *-/-* e o tratamento com DD não modificou este parâmetro (CSDH, 1,0±0,3; CCDH, 12,3±2,1; DD0,1, 9,1±0,65; DD1, 15,14±1,2; DDN, 3,1±0,8). A hipercolesterolemia induziu um significativo aumento na lipoperoxidação, a qual não foi acompanhada pela modificação dos níveis de NPSH no cérebro dos animais, entretanto, o tratamento com DD foi capaz de prevenir o aumento da peroxidação lipídica (CSDH, 10,43±0,88; CCDH, 45,21±11,09; DD0,1, 10,57±1,49; DD1, 13,62±3,26; DDN, 10,29±1,12 nmol/g tecido). No fígado a hipercolesterolemia não induziu aumento nos níveis de TBARS, todavia diminuiu significativamente os níveis de NPSH. O tratamento com DD preveniu a redução nos níveis de NPSH de maneira significativa neste órgão (CSDH, 1,34±0,08; CCDH, 1,04±0,06; DD0,1, 1,42±0,05; DD1, 1,48±0,06; DDN, 1,72±0,12 µmol/g tecido). Nos eritrócitos, tanto os níveis de TBARS quanto de NPSH não foram alterados pelo tratamento com DD. **Discussão:** O tratamento com DD foi capaz de promover um aumento das defesas antioxidantes hepáticas e reduzir os danos oxidativos aos lipídeos no cérebro de animais LDLr *-/-* submetidos à DH. Por outro lado, o tratamento com o composto não foi capaz de alterar a razão LDL +VLDL/ HDL. As alterações promovidas por este composto sobre os parâmetros de estresse oxidativo podem ser importantes para a prevenção desenvolvimento de lesões ateroscleróticas. Apoio Financeiro: Redoxoma/CNPq, Finep, Fapesac

04.050
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.051

17-nor-subincadina e, um alcalóide isolado de *Aspidosperma ulei* Markgr. relaxa corpos cavernosos de coelhos aumentando níveis intracelulares de nucleotídeos cíclicos. Costa, P. P. C.¹; Deocleciano Jr., O. B.²; Cunha, K. M. A.²; Santos, C. F.³; Santos, F. A.²; Nascimento, N. R. F.⁴; Rao, V. S.² ¹UECE - Fisiologia; ²UFC - Farmacologia e Fisiologia; ³UECE - Medicina; ⁴UECE - Medicina Veterinária

Recentemente nosso laboratório demonstrou a atividade pró-erétil *in vivo* de um alcalóide, 17-nor-subincanadina E (SEC), extraído das cascas do caule de *Aspidosperma ulei* Markgr. O presente trabalho investigou seu potencial relaxante em tiras de corpos cavernosos de coelhos (RbCC). Para tanto, coelhos Califórnia jovens (5-6 meses) foram sacrificados após injeção endovenosa de tiopental sódico (Thiopentax®;Cristália; 100 mg/kg) seguida de cloreto de potássio 10%. Em seguida o pênis foi retirado e dissecado para retirada dos corpos cavernosos. Tiras de 1 cm foram montadas em paralelo em banhos de 5 mL contendo Krebs-Henseleit (37°C; pH 7,4; aerados com 95% O₂ e 5% CO₂) sob carga de 1g. Os tecidos foram pré-contraídos com fenilefrina (10µM) e sobre o platô da resposta contrátil curvas concentração-resposta foram construídas para: veículo (salina 0,9%; isovolumetricamente), SEC (1 a 100 µg/ml). A resposta ao alcalóide foi ainda estudada na presença de inibidor do sítio heme da guanilato ciclase solúvel, ODQ (30µM). O efeito do alcalóide (10 e 30µg/ml) foi também avaliado, quando pré-incubado por 15 min, na resposta relaxante induzida por nitrato de sódio (10⁻⁶-10⁻³M) ou forskolina (10⁻¹⁰ a 10⁻⁵M). Os níveis de GMPc e AMPc (pmol/mg de proteína- pmol/mgP) foram avaliados por ELISA após exposição ao veículo, (SEC 7,5 e 15 µg/ml), nitroprussiato de sódio (1µM) ou forskolina (1 µM). A resposta relaxante máxima induzida por SEC 100 µg/ml em RbCC foi de 100% (IC₅₀ de 7,1 [3,1-16,3] e de 79,1% ± 4,5 (IC₅₀ 45,8[36,7-54,9] na presença de ODQ 30µM. A resposta relaxante máxima induzida por nitrato de sódio foi de 61,15 %± 7,8 e na presença de SEC 10 e 30 µg/ml de 73,67 % ± 6,9 e 87,19 % ± 2,9 respectivamente com deslocamento para esquerda das curvas. As curvas concentração resposta à forskolina foram deslocadas para esquerda, PD₂ de 5.4 [5.9-4.9] no controle contra 6.3 [6.7-5.9] após SEC 10 µg/ml e 7.2 [7.6-6.8] após SEC 30 µg/ml, sem alteração da resposta máxima (100% de relaxamento). Os níveis basais de GMPc dosados em corpos cavernosos de coelhos pré-contraídos com fenilefrina 10 mM foi de 8,3 ± 2,9 pmol/ mgP, na presença de SEC 7,5 e 15 mg/ml foi de 8,5 ± 1,0 pmol/ mgP e 21,5 ± 4,2 pmol/ mgP (p<0,05 vs. controle), respectivamente, e na presença de SNP 1 mM foi de 43,6 ± 1,8 pmol/mgP. Os níveis de AMPc dosado em corpos cavernosos de coelhos pré-contraídos com fenilefrina 10 mM foi de 117,3 ± 7,9 pmol/mgP, na presença de SEC 15 mg/ml foi de 331,95 ± 26,1 pmol/mgP (p<0,05 vs. controle) e na presença de forskolina 1mM foi de 1933,9 ± 116,4 pmol/mgP. SEC relaxa RbCC por mecanismo parcialmente dependente de GMPc, aumenta a resposta a nitrato orgânico e a ativador de guanilato ciclase e aumenta níveis de nucleotídeos cíclicos provavelmente por mecanismo associado à inibição de PDE de ação mista. Apoio Financeiro: funcap

04.052

Efeito do duplo bloqueio do sistema renina-angiotensina sobre a pressão arterial e reatividade vascular a agentes vasodilatadores em ratos normotensos e hipertensos renais. Correa, J. W. N.¹; Bendhack, L. M.² ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FCFRP-USP

Introdução: A ativação do sistema renina-angiotensina (SRA) ocorre na hipertensão essencial e renal e predispõe a lesão em órgãos alvo. O principal efector responsável pelos efeitos deletérios do SRA na hipertensão arterial é a angiotensina II (Ang II), cujos efeitos podem ser afetados por inibidores de sua síntese (iECA) ou por antagonistas dos receptores de Ang II (AT₁). **Objetivos:** Verificar os efeitos sobre a pressão arterial sistólica (PAS) e reatividade vascular a agentes vasodilatadores após o tratamento com inibidores do SRA. **Métodos:** Ratos foram submetidos à cirurgia para indução da hipertensão pela implantação de um clipe de prata na artéria renal (2R-1C) ou submetidos à cirurgia fictícia (2R). Seis semanas após, os ratos 2R-1C e 2R foram submetidos aos seguintes tratamentos por gavagem: losartan (ARA-2 ou 30 mg/kg/dia), enalapril (iECA- 2 ou 20 mg/kg/dia), losartan+enalapril (associação das maiores ou menores doses) ou veículo, por um período de 2 semanas. A PAS foi aferida por pletismografia de cauda a cada 3 dias durante os tratamentos. Ao final, foram obtidas curvas concentração-resposta para acetilcolina (ACh) e nitroprussiato de sódio (NPS) em anéis de aorta de ratos 2R e 2R1C. **Resultados:** A PAS de ratos 2R-1C foi maior que a de 2R (208,8±3,3 mmHg, n=44 vs. 112,6±1,5 mmHg, n=48, P<0,0001). Os diferentes tratamentos não alteraram a PAS (mmHg) dos ratos 2R. Porém, nas menores doses, os tratamentos reduziram a PAS de 2R-1C em relação ao controle (206,4±9,9, n=7, P<0,05) com os seguintes valores de PAS: losartan (184,4±11,9, n=9), enalapril (177,5±8,7, n=6) ou a associação de ambos (152,8±9,2, n=7). Efeitos semelhantes foram obtidos nas maiores doses: losartan: 150,0±17,1, n=4; enalapril: 140,0±20,2, n=3; associação: 95,0±7,3, n=4 vs. Controle: 200,0 ± 23,1, n=3 (P<0,05). Somente no tratamento com as maiores doses de enalapril, ou sua associação com losartan, a PAS dos ratos 2R-1C se tornou semelhante àquela de ratos 2R. Observamos maior tendência da associação de enalapril/losartan ser mais efetiva nesse efeito. O relaxamento da aorta de ratos 2R com ACh e NPS não foi alterado pelos tratamentos com as maiores doses dos inibidores do SRA. **Discussão:** No modelo 2R-1C os inibidores do SRA produziram efeitos hipotensores semelhantes, porém ocorre uma tendência de amplificação destes efeitos com o duplo bloqueio do SRA. Em ratos normotensos 2R, os tratamentos não interferem com a PAS e relaxamento da aorta aos vasodilatadores estudados. Apoio Financeiro: FAPESP e CNPq

04.053
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.054
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.055

Gender-Specific Vascular Effects Elicited by Chronic Ethanol Consumption in Rats: a role for inducible Nitric Oxide synthase. Tirapelli, C. R.¹; Fukada, S. Y.²; Yogi, A.³; Chignalia, A. Z.³; Tostes, R. C. A.³; Bonaventura, D.⁴; Lanchote, V. L.⁴; Cunha, F. de Q.²; de Oliveira A. M.⁴
¹EERP - USP - Farmacologia; ²FMRP-USP - Farmacologia; ³ICB-USP - Farmacologia; ⁵FCFRP-USP - Física e Química

Introduction: Epidemiological data suggest that the risk of ethanol-associated cardiovascular disease is greater in men than in women. This study investigates the mechanisms underlying gender-specific vascular effects elicited by chronic ethanol consumption. **Methods:** Male and female wistar rats were treated with ethanol (20% vol/vol) for 4 weeks. Vascular reactivity experiments using standard muscle bath procedures were performed on isolated thoracic aorta from Wistar rats. Vascular reactivity experiments using standard muscle bath procedures were performed on isolated thoracic aortae from rats. mRNA and protein for inducible NO synthase (iNOS) and for endothelial NOS (eNOS) was assessed by RT-PCR or western blotting, respectively. **Results:** In male rats, chronic ethanol consumption enhanced phenylephrine-induced contraction in both endothelium-intact and denuded aortic rings. However, in female rats, chronic ethanol consumption enhanced phenylephrine-induced contraction only in endothelium denuded aortic rings. After pre-incubation of endothelium-intact rings with L-NAME (a non-selective NOS inhibitor), both male and female ethanol-treated rats showed larger phenylephrine-induced contraction in aortic rings than animals in the control group. Acetylcholine-induced relaxation was not affected by ethanol consumption. The effects of ethanol on the reactivity to phenylephrine were similar in ovariectomized (OVX) and intact (non-OVX) female rats. In the presence of aminoguanidine (a selective iNOS inhibitor), but not 7-nitroindazole (a selective nNOS inhibitor), the contractile response induced by phenylephrine in the rings from ethanol-treated female rats was greater than that found in control tissues in the presence of the inhibitors. mRNA levels for eNOS and iNOS were not altered by ethanol consumption. Ethanol intake reduced eNOS protein levels and increased iNOS protein levels in the aorta from ethanol-treated female rats. **Discussion:** Our findings show that gender differences on the vascular effects elicited by chronic ethanol consumption are not related to the sexual ovarian hormones but seem to involve the up-regulation of iNOS. Apoio Financeiro: FAPESP

04.056
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.057

Cardiac Na⁺/K⁺-ATPase and MAP kinases in endothelial nitric oxide synthase gene knockout mice. Rezende, D. C.¹; Caricati-Neto, A.²; Jurkiewicz, A.²; Noel, F.¹; Quintas, L. E. M.¹. ¹UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica; ²UNIFESP - Farmacologia

Introduction: Mice knocked out for the endothelial nitric oxide synthase gene (eNOS/KO) are described as hypertensive, but do not develop cardiac hypertrophy. Here we evaluate the influence of pressure overload due to the absence of eNOS on some proteins that have crucial role on maintaining heart homeostasis. Our aim was to assess enzymatic activity and protein expression of Na⁺/K⁺-ATPase (NKA) α isoforms, and active and total mitogen-activated protein kinases (MAPKs). **Methods:** Male 10-12-week-old eNOS/KO or control (C57BL/6J) mice were weighed, anesthetized and their hearts were excised and also weighed. Hearts were homogenized and passed through differential centrifugation to obtain cytosolic and particulate fractions. To evaluate protein expression, samples ran on 5, 7.5, 10 or 12% SDS-PAGE followed by immunoblotting with suitable antibodies. NKA activity was defined as the ATPase activity inhibited by ouabain, calculated as the difference between the activity in the absence (total) and in the presence of 1 mM ouabain. **Results:** Biometrical analysis revealed no difference in distribution of heart/body weight ratios between the two groups of animals. As expected, Western blot demonstrated that eNOS was not detected in cardiac fractions from eNOS/KO mouse model. Myocardial NKA activity of eNOS/KO mice was 64% of control values (p<0.001, n=3). Using cut-off ouabain concentrations (1 or 0.1 μ M) to separate ouabain-sensitive (α 2/ α 3) from the relatively resistant (α 1) NKA activities, it was observed that both activities decreased at the same proportion. Immunoblot showed that protein expression of NKA α 2 isoform, but not α 3, was reduced (43% of control, p<0.05, n=3) in eNOS/KO hearts. Likewise, active (phosphorylated) ERK1/2-MAPK density was highly reduced in eNOS/KO (5% of control, p<0.05, n=3). **Discussion:** In eNOS/KO model, depressed cardiac Na⁺/K⁺-ATPase activity, in association with downregulation of Na⁺/K⁺-ATPase α 2 isoform, may represent an adaptation to pressure overload, in order to generate a positive inotropic effect to compensate the augmented peripheral vascular resistance. Besides, reduced local endogenous NO generation, caused by absence of eNOS in this model, may contribute to depressed Na⁺/K⁺-ATPase activity. The mechanical stress induced by overload seems to inhibit basal ERK1/2-MAPK activation, suggesting that in this stage there is not, actually, activation of signaling pathways involved in development of cardiac hypertrophy. Studies with Ca²⁺-ATPases and other MAPKs, as well as in eNOS/KO mice kidneys, are in progress. Apoio Financeiro: FAPERJ, CAPES, CNPq, FAPESP

04.058
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.059

Tetraethylammonium interferes with nitric oxide production through reduction of inducible nitric oxide synthase expression in septic rats. Sordi, R.; Fernandes, D.; Heckert, B. T.; Assreuy, J. UFSC – Farmacologia

Introduction: The enhanced formation of nitric oxide (NO) due to induction of NOS-2 contributes to several key features of septic shock physiopathology, such as severe hypotension and vascular hyporeactivity to vasoconstrictors. Potassium channels (KC) seem to have an important role in macrophage activation and release of NO and IL-1 β *in vitro*. In this study we examined whether alterations in the activity of KC caused by tetraethylammonium (TEA), nonselective blocker of potassium channels, affects NO production and NOS-2 expression *in vivo* in an experimental model of septic shock. **Methods:** Sepsis was induced by cecal ligation and puncture (CLP) in female Wistar rats, and tetraethylammonium (TEA, 50 μ mol/kg, s.c.) was administered 4 h after CLP procedure. Twenty-four hours after CLP surgery we have investigated whether TEA influences the induction of NOS-2 in lung and thigh skeletal muscle of rats with septic shock. The effects of phenylephrine (Phe) on blood pressure, plasma nitrite/nitrate (NOx) levels and mortality rate were also evaluated. Sham-operated (SH) animals were used as control. **Results:** Twenty-four hours after CLP surgery, sepsis resulted in an increase in lung (L) and thigh skeletal muscle (M) NOS-2 protein levels (25% and 200% respectively). Injection of TEA 4 h after surgery attenuated this increase in NOS-2 expression (L: ~60% and M: ~20% reduction). Levels of actin in these tissues were not altered by CLP surgery or TEA treatment. Plasma NOx levels were increased in CLP animals but TEA treatment 4 hours after CLP surgery, reduced plasma NOx significantly (SH 12.1 ± 3.1 ; CLP 103.2 ± 11.4 μ M; CLP+TEA 63.3 ± 9.0 μ M $p < 0.05$); and also prevented hyporeactivity to Phe (30 nmol/kg; SH 39.7 ± 1.3 ; CLP 22.8 ± 3.8 ; CLP+TEA 35 ± 3.3 mmHg, $n=6$; $p < 0.05$). Mortality was evaluated during 72 h after CLP procedure and TEA treatment has improved survival rate by 50% (versus 100% of mortality of control group). **Discussion:** Early TEA treatment improved hemodynamic parameters and decreased mortality rate. Although certainly not the only one relevant mechanism, NO/NOS-2 reduction can be regarded as an important contribution to TEA beneficial effects due to the crucial role of NO in sepsis. Since non-selective NOS inhibition has been shown to be harmful to the host, partial inhibition of NOS-2 expression may be advantageous in reducing the undesired NO cardiovascular and perfusional consequences, while preserving other functions, such as cytotoxicity towards microorganisms. A better understanding of the relationship among KC and NOS may lead to development of improved strategies for the management of septic shock. Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPESC and PRONEX.

04.060

A ação da Angiotensina II (AngII) em receptores AT1 promove contração de veia cava isolada de rato que é modulada por Óxido Nítrico (NO) e prostanóides produzidos localmente. Silva, O. G.¹; Rossignoli, P. S.²; Chies, A. B.³ ¹UNIMAR - Farmácia; ²FAMEMA - Farmacologia; ³FAMEMA - Ciências Fisiológicas

Introdução: A literatura não é ampla no que se refere ao conhecimento sobre os mecanismos pelos quais a Ang II produz seus efeitos em leitos venosos. Portanto, objetivamos caracterizar as ações vasomotoras da Ang II em veia cava isolada de ratos, identificando os receptores (AT1/AT2), bem como os mecanismos moduladores relacionados ao NO e aos prostanóides, envolvidos nas respostas a este peptídeo. **Métodos:** Ratos Wistar adultos ♂ pesando entre 300-350g foram anestesiados com tribromoetanol (250 mg/kg, i.p.) e exanguinados para retirada de anéis (5mm) de veia cava. As preparações foram montadas em cubas para estudo de órgão isolado com solução de Krebs-Henseleit, pH 7.4, aerado com mistura carbogênica (95% O₂ e 5% CO₂) e aquecido a 37°C. Atividades contráteis sob tensão basal de 0,5g foram registradas através do sistema PowerLab[®]. A reatividade vascular foi estudada a partir de curvas concentração-resposta cumulativas para Ang II (10⁻¹¹ - 10⁻⁶M) obtidas de preparações não tratadas, tratadas com antagonista de receptores AT1 (Losartan; 10⁻⁷M), antagonista de receptores AT2 (PD123319; 10⁻⁷M), inibidor da NO-sintase (L-NAME; 10⁻⁴M), inibidor da cicloxigenase (COX) (Indometacina; INDO; 10⁻⁵M), ou L-NAME + INDO. Comparações (n de 8-10) foram feitas entre valores de pD₂ (- log da EC₅₀) e de resposta máxima em gramas (Rmax) por meio de Análise de Variância de uma via (ANOVA). Diferenças significativas quando P<0.05. **Resultados:** Não foram observadas diferenças significativas em relação ao Rmax de Ang II após o bloqueio dos receptores AT1 e AT2. O tratamento com Losartan, mas não com PD123319, levou a uma redução do pD₂ da Ang II (de 8.572±0.08 para 7.328±0.08, P<0.001). O tratamento das preparações com L-NAME promoveu aumento do pD₂ da Ang II (de 8.540±0.09 para 8.956±0.08, P<0.05). Aumento de Rmax de Ang II foi observado após o bloqueio com L-NAME + INDO (de 0.6198±0,05 para 1.1130±0.10, P<0.05). **Discussão:** A ação vasoconstritora da Ang II em veia cava isolada de rato parece ocorrer via ativação de receptores AT1 presentes neste leito vascular. A resposta deste leito venoso frente à Ang II parece ser atenuada pela produção basal de NO e prostanóides.

04.061

Angiotensina-(3-4) antagoniza os efeitos da angiotensina II na Ca^{2+} -ATPase de membrana plasmática renal via receptores AT_2 e dissociação de heterodímeros AT_1/AT_2 . Axelband, F.¹; Dias, J. A. P.¹; Ferrão, F.¹; Lara Morcillo, L. S.²; Vieyra, A.¹ ¹IBCCF-UFRJ; ²UFRJ - Farmacologia Básica e Clínica

Introdução: Recentemente foi observado que Angiotensina II (Ang II) modula a atividade Ca^{2+} -ATPásica (PMCA) de membrana basolateral (MBL) de túbulos proximais de rim de ovelha (Assunção-Miranda et al., 2005). Concentrações inferiores a 10^{-10} M inibem a PMCA através de um receptor sensível a losartan (antagonista do receptor AT_1) e PD 123319 (antagonista do receptor AT_2) (Assunção-Miranda et al., 2005), mas concentrações superiores revertem esse efeito, sugerindo o envolvimento de metabólitos deste peptídeo. A incubação das membranas com Ang II 30 μM mostra a formação de dois peptídeos (M_1 e M_2) com tempo de retenção (t_r), em HPLC, de 10,2 min e 11,9 min. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é identificar estes metabólitos, bem como os receptores ativados pelos mesmos que levam a reversão do efeito inibitório de Ang II sobre a PMCA. **Métodos:** A atividade da PMCA é mensurada segundo Taussky & Shorr (1953). Para HPLC, a MBL (1 mg/mL) é incubada com os peptídeos de angiotensina por 30 min a 37 °C e a reação é paralisada com tampão acetato de sódio 5 mM. A coluna utilizada é C-18, a detecção é a 214 nm e dois solventes são utilizados: A (água deionizada e 0,1 % de TFA) e B (90% de acetonitrila e 0,1% de TFA). Para a imunoprecipitação, a MBL é solubilizada em CHAPS 0,01%, após o tratamento com os peptídeos. O anticorpo anti- AT_2 (diluição 1:200) é pré-incubado com a proteína A-agarose e em seguida adicionado à MBL. Posteriormente, o sobrenadante é separado do imunoprecipitado e realizado o ensaio de Western blotting. **Resultados:** A utilização de PD 123319 impediu a reversão do efeito inibitório de Ang II 10^{-10} M pelos metabólitos, enquanto o losartan não alterou a atividade da enzima. Ainda foi visto que a adição de CGP 42112A mimetizou o efeito dos metabólitos. Foi verificado que há formação de heterodímero de receptor AT_1 com o receptor AT_2 tanto em condições basais, como com a adição de Ang II 10^{-10} M. Porém, a adição de Ang II 10^{-6} M promove a dissociação destes dímeros. A análise por HPLC revelou que o t_r de Ang-(3-4) e do aminoácido tirosina foram idênticos aqueles de M_2 e M_1 , respectivamente e que Ang-(3-4), 10^{-14} M, reverte o efeito inibitório de Ang II, 10^{-10} M, através da ativação de receptores AT_2 . **Discussão:** Em situações que cursam com altos níveis de Ang II a proteólise deste peptídeo leva ao aparecimento de Ang-(3-4), que antagoniza os efeitos de Ang II sobre a PMCA através da ativação de receptores AT_2 . Além disso, Ang-(3-4) parece levar, de alguma maneira, a dissociação de heterodímeros AT_1/AT_2 , os quais estariam sendo estimulados por Ang II em baixas concentrações. Apoio Financeiro: FAPERJ, CNPq

04.062

Vasodilatation induced by a new no donor involves guanylyl cyclase, K^+ channels, Cl^- channels activation and inhibition of Ca^{2+} channels. Pereira, A.C.; Librandi, A. P. L.; Silva, R. S.; Bendhack, L. M. FCFRP-USP – Farmacologia - Física e Química;

Introduction: Nitric oxide (NO) produced in the endothelial cells or released by NO donor migrates to vascular smooth muscle cells where it activates the soluble guanylyl-cyclase (sGC) that produces cGMP and activation of cGMP-dependent protein kinase (PKG). This enzyme can phosphorylate several proteins that could be involved in the vascular relaxation. This study aimed to investigate whether the new NO donor *cis*-[Ru(bpy)₂(py)(NO)](PF₆)₃ induces vasodilatation through NO-sGC-PKG pathway and the activation of proteins in the rat aorta.

Methods: Rats (180-200g) were killed and the thoracic aorta was removed. Denuded aortic rings were placed in a system to measure the isometric tension. Functional studies were made in aortic rings pre-contracted with phenylephrine (Phe, 100nM) or 60mM KCl. Cumulative concentration-effect curves for the NO donor were made in the presence or in the absence of the selective sGC inhibitor (ODQ, 1 μ M), non-selective K^+ channel blocker (TEA, 1mM) and Cl^- channel blocker (NPPB, 10 μ M). Cumulative concentration-effect curves for $CaCl_2$ stimulated with 100nM Phe or 60mM KCl were made in the presence or in the absence of the NO donor. We analysed the values of maximum effect (E_{max}) and the potency (pD₂) of the NO donor.

Results: The NO donor induced concentration-dependent relaxation (E_{max}: 105 \pm 1.08%; pD₂: 6.54 \pm 0.1; n=5) in rat aorta pre-contracted with Phe. In aortic rings pre-contracted with KCl, the NO donor also induced relaxation, although the E_{max} and pD₂ values were lower (E_{max}: 67.5 \pm 4.6%; pD₂: 5.79 \pm 0.11; n=5). Incubation with ODQ reduced E_{max} (75 \pm 4.5%) and pD₂ (5.2 \pm 0.09; n=8) in aortas pre-contracted with Phe. The effect of ODQ plus KCl reduced the E_{max} (60.3 \pm 5.7%), but did not change pD₂ (5.29 \pm 0.09; n=8). The channel blockers TEA and NPPB did not alter the E_{max} (TEA: 98.6 \pm 2.1%, n=6; NPPB: 100.7 \pm 2.2%, n=7), but both reduced the potency (pD₂) of the NO donor (TEA 5.85 \pm 0.1; n=6 and NPPB: 5.96 \pm 0.07, n=7). The cumulative concentration-effect curves for $CaCl_2$ stimulated with 100nM Phe were similar to those stimulated with 60mM KCl (Phe E_{max}: 1.4 \pm 0.16%; pD₂: 0.47 \pm 0.19, n=9 and KCl E_{max}: 1.6 \pm 0.21%; pD₂: 0.51 \pm 0.12, n=7). Incubation with the NO donor reduced the E_{max} of both curves (Phe: 0.1 \pm 0.06% and KCl: 0.7 \pm 0.11%). **Discussion:** The relaxation induced by the new NO donor involves the activation of sGC, K^+ channels sensitive to TEA and Cl^- channels sensitive to NPPB. Moreover, the NO donor almost abolished extracellular Ca^{2+} influx through α_1 -adrenoceptor-operated and voltage-operated channels. Apoio Financeiro: FAPESP and CNPq.

04.063

Attenuation of acute pulmonary embolism (APE)-induced pulmonary hypertension by activation of nitric oxide-cyclic GMP (NO-cGMP) pathway may involve inhibition of matrix metalloproteinase-9. Dias-Júnior, C. A.¹; Cau, S. B. A.¹; Montenegro, M. F.¹; Florêncio, B. C.¹; Gerlach, R. F.³; Tanus-Santos, J. E.¹ ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FORP - USP – Morfologia

Introduction: APE-induced pulmonary hypertension may result from active pulmonary vasoconstriction, which can be counteracted by activating the NO-cGMP pathway. Recent studies have demonstrated that a group of zinc-dependent endopeptidases called matrix metalloproteinases (MMPs) and oxidative stress may be implicated in the pathophysiology of APE. Here, we examined if beneficial haemodynamic effects induced by NO-cGMP activation during APE may involve the inhibition of MMPs and oxidative stress. **Methods:** Haemodynamic evaluations were carried out for two hours in non-embolized mongrel dogs treated with saline (Sham group; n=5). APE was induced with 300 µm microspheres injected into the inferior vena cava over 3-5 min. Thirty min after APE was induced, a group of dogs received only saline (Emb group; n=9) infusion or nitrite (6.75 micromol/kg over 15 min and then 0.28 micromol/kg/min, Nitrite group; n=5) infusion or sildenafil (0,3 mg/kg/h, Sildenafil group; n=5) infusion or BAY 41-2272 (0.03, 0.1, 0.3 and 1 mg/kg/h over 15 min each dose, BAY group; n=5) infusion. Gelatin zymography of MMP-2 and MMP-9 from plasma samples were performed and plasma MDA levels were measured by fluorometric assay. **Results:** APE increased mean pulmonary arterial pressure (MPAP) and pulmonary vascular resistance index (PVRI) by 25±3 mmHg and by 800±150 dyn.s.cm⁻⁵.m⁻², respectively in Emb group. Although the infusion of nitrite or sildenafil or BAY 41-2272 reduced MPAP and PVRI by 35% and 45%, respectively (all P<0.05), only Nitrite or Sildenafil groups showed increased cardiac index (CI) by 30% (both P<0.05) and both drugs (Nitrite or Sildenafil) reduced the MMP-9 and MDA increased levels induced by APE (all P<0.05). However, only BAY group showed a significant systemic hypotension and plasma MMP-9 and oxidative stress increased levels (P<0.05). No significant changes were observed in plasma MMP-2 levels (P=NS). **Discussion:** These results showed that despite all three drugs (nitrite, sildenafil or BAY 41-2272) had attenuated APE-induced pulmonary hypertension, beneficial haemodynamic effects followed by decreased MMP-9 and oxidative stress levels were observed only with selective pulmonary vasodilators such as nitrite or sildenafil infusions and as well new favorable mechanisms for activating the NO-cGMP pathway may involve inhibition of MMP-9 and oxidative stress. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES and FAPESP.

04.064

Hypotensive effect of the nitrosyl ruthenium complex nitric oxide donor in renal hypertensive rats. Gaitani, C. M.¹; Lunardi, C. N.²; Melo, M. C. C.²; Oliveira, F. S.²; Bendhack, L. M.²; Da Silva, R. S.² ¹FCFRP-USP - Ciências Farmacêuticas; ²FCFRP-USP - Física e Química

Introduction: We have described a new compound (*trans*-[RuCl([¹⁵]aneN₄)NO]²⁺), which in vitro releases NO by the action of a reducing agent such as catecholamines. We investigated the effect of this NO donor in lowering the mean arterial pressure (MAP) in severe and moderate renal hypertensive 2K-1C rats. **Methods:** MAP was measured before and after intravenous in bolus injection of the compound in conscious 2K-1C and normotensive (2K) rats. **Results:** In the hypertensive rats (basal 196.70±8.70 mmHg, n=5), the MAP was reduced in -34.25±13.50 mmHg (P<0.05) 6 hours after 10 mmol/L/kg of the compound. In normotensive rats the compound had no hypotensive effect. We have also studied the effect of injection of 0.1 mmol/L/kg in normotensive (basal 118.20±11.25 mmHg, n=4), moderate (basal 160.90±2.30 mmHg, n=6), and severe hypertensive rats (basal 202.46±16.74 mmHg, n= 6). The compound at the dose of 0.1 mmol/L/kg did not have effect (P>0.05) on MAP of normotensive and moderate hypertensive rats. However, in the severe hypertensive rats (basal 202.46±16.70 mmHg, n=6) there was a significant reduction on the MAP of -28.64±12.45 mmHg. The cell viability after the incubation of vascular smooth muscle cells (VSMC) with 0.1 mmol/L *trans*-[RuCl([¹⁵]aneN₄)NO]²⁺ for 3h was not toxic as revealed by the MTT assay. **Discussion:** The NO donor reduced the MAP of all hypertensive rats in the dose of 10mmol/kg and in the severe hypertensive rats at the dose of 0.1mmol/kg, and it was not cytotoxic to the rat aortic VSMC in the concentration that produced the maximum relaxation. Apoio Financeiro: Supported by FAPESP and CNPq

04.065

Influence of regular prior physical training in the platelet reactivity in rats under chronic nitric oxide blockade. Monteiro, P. F.¹; Baldissera Jr, L.¹; Claudino, M. A.¹; Prada Morganti, R.¹; Antunes, E.¹; Zanesco, A.² ¹UNICAMP - Farmacologia; ²UNESP - Educação Física

Introduction: Regular physical exercise reduces and prevents the risk of vascular thrombotic events and arterial hypertension, which is believed to reflect an increased production of nitric oxide (NO) by endothelial cells. However, few studies exist evaluating the influence of regular physical exercise in modulating the platelet functions. Therefore, this work aimed to evaluate the effects of physical preconditioning in platelet aggregation and adhesion *in vitro* in rats under chronic NO blockade. **Methods:** Male Wistar rats (190-200 g) were submitted to an 8-week run training program, 5 days/week, 60 min/day, at a speed of 0.6-1.2 Km/h. After 4-weeks preconditioning, rats were treated or not with the NO synthesis inhibitor L-NAME (10 mg/rat/day), given in the drinking water for the next 4 weeks. Arterial blood was collected 48 h after the last training session. Washed platelets (1.2×10^8 platelets/mL) were used in our assays. Adhesion assays were carried out in 96-well plates coated with fibrinogen, whereas aggregation was performed using an aggregometer. Platelets were activated with either thrombin (30-100 mU/mL) or ADP (5-50 μ M). **Results:** In both untreated and L-NAME-treated rats, physical preconditioning had no effect in the spontaneous platelet adhesion (10 ± 0.5 and $9.2 \pm 0.6\%$, respectively; $n=5-7$) compared with sedentary animals (9 ± 0.5 and $10 \pm 0.5\%$, respectively; $n=5-7$). Similarly, physical preconditioning failed to affect the ADP (10 μ M)- or thrombin (100 mU/mL)-induced platelet adhesion (56.4 ± 4.4 and $60 \pm 4.4\%$, respectively; $n=5-7$) compared with sedentary animals ($45.0 \pm 5.1\%$ and $50.4 \pm 4.4\%$, respectively; $n=5-7$). The thrombin- and ADP-induced platelet aggregation was also unaffected by the physical preconditioning training. **Discussion:** Our preliminary data show that physical preconditioning does not affect the *in vitro* platelet activity in untreated or in L-NAME-treated rats. However, additional investigations are required before establishing the platelet behavior under physical training.

04.066

Efeito de diferentes modalidades de treinamento físico sobre a densidade capilar e a capacidade oxidativa do músculo grácil. Souza F. P.¹; Moraes R.¹; Tibiriçá, E.¹ ¹FIOCRUZ - Fisiologia e Farmacodinâmica

Introdução: O exercício contínuo de intensidade moderada (ExC) tem sido utilizado como estratégia para prevenção e tratamento de doenças cardiometabólicas. Evidências recentes indicam, entretanto, que metodologias de treinamento que incluam estímulos de alta intensidade, freqüentemente associados ao aumento do estresse oxidativo e redução na biodisponibilidade de óxido nítrico, podem na realidade, aumentar a reserva anti-oxidante vascular e proporcionar aumentos na resposta de vasodilatação dependente de endotélio. Este estudo pretende comparar os efeitos adaptativos de diferentes modalidades de treinamento físico sobre a microcirculação, o ganho de peso e a capacidade oxidativa do músculo grácil.

Metodologia: Ratos WKY com 275g permaneceram sedentários SD (n=10) ou foram submetidos à modalidade de treinamento ExC (n=10) ou intervalado de alta intensidade ExI (n=10) durante 8 semanas. Testes de esforço máximo foram realizados no início e no final do treinamento. A capacidade funcional capilar do músculo grácil foi avaliada por microscopia intra-vital e amostras de tecido muscular congeladas para análise histológica da densidade capilar estrutural e identificação, através de técnicas enzimáticas e de imunomarcção, da expressão das enzimas citrato sintase, eNOS e VEGF. **Resultados:** As modalidades ExC e ExI promoveram aumento significativo da capacidade de esforço máximo (ExI:32,3+/-1,4m/min x ExC:31,3+/-3,4m/min x SD:14,7+/-1,3m/min; p<0,05) e menor ganho de peso em relação aos controles sedentários (ExI:381g +/-27 x ExC:396g+/-31 x SD:436g+/-38; p<0,05). A perfusão capilar do músculo grácil foi significativamente maior nos grupos EXC e EXI em relação ao controle (ExC:283+/-24capilares/mm² x ExI:283+/-24capilares/mm² x SD:216+/-24capilares/mm²; p<0,05). **Conclusão:** Resultados preliminares sugerem que as modalidades de treinamento ExI e ExC são igualmente eficazes para melhorar o rendimento aeróbico, atenuar o ganho de peso e aumentar a perfusão capilar no músculo grácil de ratos.

04.067

Angiotensin-(1-7) modulates angiotensin II-mediated contraction of endothelium denuded rat aorta by reducing PI3Kinase phosphorylation. Allahdadi, K. J.¹; Santos, R. A. S.²; Leite, R.³; Webb, R. C.¹ ¹Medical College of Georgia - Physiology; ²UFMG - Fisiologia e Biofísica; ³Medical College of Georgia / UFOP Farmácia

Background: We previously reported that the potent vasodilator angiotensin-(1-7) [Ang-(1-7)] reduces Ang II-mediated contraction of denuded aortic rings, suggesting that the heptapeptide exerts a direct effect on vascular smooth muscle cells. Considering that Ang II activates a wide spectrum of signaling responses, including the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3Kinase) pathway, we hypothesized that Ang-(1-7) directly attenuates Ang II-mediated contraction of the vascular smooth muscle by reducing PI3K/Akt/ERK-1/2 activity. **Methods:** Endothelium-denuded thoracic aortas from male Wistar rats (250-300g) were used in this study. Aortic rings were incubated with vehicle (V), Ang-(1-7) (10 μ M, 5 min), Ang II (1 μ M, 2 min) or both Ang-(1-7)/Ang II (respective concentrations and durations) at 37°C. Tissues were used in functional assays or frozen and homogenized for protein analysis using Western blot. Both the total and phosphorylated forms of PI3Kinase, Akt, ERK-1/2 and PDK1 were probed. **Results:** Inhibitory effects of Ang-(1-7) on Ang II-mediated contractions [E_{max} (mN) = V, 6.09 ± 0.94 vs. angiotensin (1-7), 4.38 ± 0.55 , $p < 0.05$, $n = 6-8$] were completely abolished in the presence of LY29004 (10^{-5} M), a PI3K inhibitor [E_{max} (mN) = Veh, 4.18 ± 0.41 vs. angiotensin-(1-7), 3.53 ± 0.39 , $n = 6-8$]. Ang II increased phosphorylated, but not total, PI3Kinase expression [arbitrary units, 2.3 ± 0.4 vs. V, 1.2 ± 0.3 , $p < 0.05$, $n = 6$]. Ang-(1-7) treatment reduced Ang II-activated phospho-PI3K levels [1.63 ± 0.31 , $n = 6$]. Ang-(1-7) did not have an effect on Ang II-stimulation of Akt, ERK-1/2 or PDK1 using this protocol. **Discussion:** We showed that Ang-(1-7) can exert direct effects on the vascular smooth muscle to reduce Ang II-activation of PI3Kinase and that the vasodilatory effects of Ang-(1-7) are expansive, beyond the endothelium. This expands our mechanistic understanding of Ang-(1-7) signaling and reinforces its role as a potent endogenous vasoprotective agent. Apoio Financeiro: NIH, CNPq and FAPEMIG

04.068

Nitric oxide is involved in the vasorelaxant effect induced by d-arabinose oxime in isolated rat superior mesenteric rings. Oliveira Júnior, F. A.¹; Carvalho, E. M.²; Dias, K. L. G.¹; Gomes, M A S.²; Viana, R. M. R.³; Alves, R. J.³; Guedes, D. N.¹; Medeiros, I. A.²; Correia, N. A.¹ ¹UFBP-Fisiologia e Patologia; ²UFBP-LTF; ³UFMG - Farmácia

Introduction: The D-arabinose oxime is a synthetic compound of molecular weight 164 g/mol and characterized by presenting the oxime functional group (C=NOH). The aim of this study is to determine the participation of nitric oxide in the vasorelaxant response induced by oxime in superior mesenteric rings. **Method:** The rat isolated superior mesenteric rings (1-2 mm) were suspended by cotton threads for isometric tension recordings in a Tyrode's solution at 37 °C and gassed with 95% O₂ and 5% CO₂, under resting tension of 0.75g. **Results:** In isolated rat mesenteric rings with intact endothelium pre-contracted with phenylephrine (1 nM -10 µM), D-arabinose oxime (10⁻¹² to 10⁻⁴ M) induced concentration-dependent relaxations (pD₂ = 5.9 ± 0.14; n = 6) and this effect was not significantly attenuated after endothelium remove (pD₂ = 5.7 ± 0.07; n = 6). In addition, the vasorelaxant effect induced by D-arabinose oxime in isolated rat mesenteric rings without endothelium was not significantly altered after L-NAME (100 µM, pD₂ = 5.5 ± 0.08; n = 6) administration. Interestingly, in rings in which the endothelium was mechanically removed, the relaxant response induced by D-arabinose oxime was practically abolished by treatment with proadifen (30 µM) (Emáx = 6.5 ± 6%; n = 6), HDX (30µM) (Emáx = 27.6 ± 4.3%;n = 6), PTIO (300 Emáx =35.3 ± 2.2% ;n = 6µM) or ODQ (10 µM) (Emáx = 10.5 ± 6.9%; n = 6). In the presence of KCl 20 mM the vasorelaxant effect induced by D-arabinose oxime against phenylephrine-induced contractions was significantly attenuated (Emáx = 69.90 ± 0.24%; n = 6). **Conclusion:** These results suggest that the vasorelaxant effect induced by D-arabinose oxime appears to involve NO-GMPc pathway in vascular smooth muscle and consequence potassium channels activation. **Keywords:** D-arabinose oxime; mesenteric artery of rat; nitric oxide. Apoio Financeiro: CNPq/CAPES/UFPB

04.069

Conseqüências da nefrectomia 5/6 no sistema renina-angiotensina em ratos. Colato, R. P.¹; Crestani, C. C.²; Olivon, V. C.³; Correa, F. M. A.²; de Oliveira A. M.³ ¹USP - Farmacologia; ²FMRP-USP - Farmacologia; ³USP - Física e Química

Introdução: O modelo animal de nefrectomia bilateral induz alterações na pressão arterial média em resposta a angiotensina II (Ang II), sugerindo comprometimento no sistema renina-angiotensina em animais com insuficiência renal crônica¹. **Métodos:** Foram utilizados ratos machos adultos Wistar, submetidos ao modelo de nefrectomia 5/6 (N5/6) para indução de insuficiência renal crônica. Para validação do modelo, foram realizadas medidas bioquímicas de clearance de creatinina e proteínas totais. Estudos funcionais de reatividade foram conduzidos em anéis de artérias carótidas comuns isoladas de animais sham e nefrectomizados (operados). Curvas concentração-efeito para Ang II (10^{-11} a 10^{-7} mol/L) e cloreto de potássio (KCl) (10 a 120 mmol/L) foram construídas em presença e ausência de endotélio. Foram estudados os valores da pressão arterial média (MAP), por meio da infusão de Ang II (1 a 17 µg/ Kg) e fenilefrina (Phe) (-0,15 a 1 µg/kg). **RESULTADOS:** Os animais operados apresentaram redução significativa no clearance de creatinina ($0,46 \pm 0,04$ mL/min, n=6), quando comparados aos animais sham ($1,56 \pm 0,31$ mL/min, n=6). Observa-se um aumento significativo no clearance de proteínas totais (operados = $2,35 \pm 0,25$ mL/min; sham = $0,59 \pm 0,09$ mL/min, n=6). Em presença de endotélio, foi observada uma redução significativa do efeito máximo (Emax) à Ang II para o grupo operado, ($0,19 \pm 0,02$ g), em relação ao grupo sham ($0,36 \pm 0,016$ g). No grupo sham, com a remoção do endotélio ocorreu aumento significativo do Emax à Ang II ($0,48 \pm 0,04$ g), quando comparado ao grupo sham na presença de endotélio ($0,36 \pm 0,016$ g). No grupo operado, a remoção endotelial não alterou significativamente o Emax para a Ang II ($0,25 \pm 0,02$ g), em relação à presença de endotélio ($0,19 \pm 0,02$ g). A resposta ao KCl na ausência de endotélio foi aumentada para o grupo sham ($0,61 \pm 0,09$ g) quando comparado ao grupo sham na presença de endotélio ($0,44 \pm 0,02$ g). Para o grupo operado, a remoção endotelial não alterou significativamente o Emax para KCl ($0,43 \pm 0,01$ g) quando comparado ao grupo operado na presença de endotélio ($0,43 \pm 0,01$ g). Ang II reduziu significativamente a MAP dos animais operados (42,2 mmHg), em relação aos animais sham (52,7 mmHg). Phe também induziu a redução da MAP dos animais operados (22,4 mmHg), em relação aos animais sham (47,03 mmHg). **Conclusões:** Os resultados obtidos sugerem uma alteração do sistema renina-angiotensina em carótidas de animais com insuficiência renal crônica e, a contração desencadeada pelos agonistas Ang II e KCl indicam um comprometimento na função endotelial das artérias carótidas dos animais operados. **Referências:** ¹Yates, M. S., et al. *J Pharm Pharmacol* 37:486-90. 1985.

04.070

Targeted disruption of kinin B₁ OR B₂ receptor gene in mice alters vascular reactivity and nitric oxide metabolism. Fernandes, L.¹; Reis, F.²; Hilzendeger, A. M.²; Kawamoto, E. M.³; Scavone, C.³; Abdallah, D. P.⁴; Pesquero, J. B.² ¹UNIFESP - Ciências Biológicas; ²UNIFESP - Biofísica; ³ICB-USP - Farmacologia; ⁴FCF-USP - Análises Clínicas

Introduction: The kallikrein-kinin system plays an important role in several biological functions, including inflammation and cardiovascular homeostasis. The diverse range of effects elicited by kinins are mediated by activation of G protein-coupled receptors, named B₁ and B₂. The aim of this study was to investigate the vascular reactivity of mesenteric arterioles from knockout B₁ (B₁^{-/-}), B₂ (B₂^{-/-}) and wild type (WT) mice. In parallel, tissue nitric oxide synthase (NOS) activity and NO circulating levels were analyzed. **Methods:** Male knockout (B₁^{-/-} and B₂^{-/-}) and WT mice were used (aged 10-14weeks, n=8-10). Isolated mesenteric arteriolar beds were perfused (Krebs Henseleit solution, 2 mL/min) and tested with acetylcholine (ACh), sodium nitroprusside (SNP), noradrenaline (NA) and angiotensin II (Ang II). Results were expressed as % of contraction induced by noradrenaline [10µM]. Vascular NOS activity was measured by the biochemical conversion of L-[³H] arginine to L-[³H] citrulline and plasma NO levels were evaluated by NO derivatives nitrate and nitrite, using an NO analyzer. **Results:** ACh-vasodilation was significantly reduced in B₁^{-/-} and B₂^{-/-} in comparison to WT preparations, whereas SNP responses were similar among strains (Table 1).

Table 1: Vasodilation induced by ACh and SNP in pre-contracted mesenteric arterioles.

	ACh			SNP		
	0.1 nmol	1 nmol	10 nmol	0.1 nmol	1 nmol	10 nmol
WT	6.3 ± 0.6	12.6 ± 1.5	14.7 ± 1.3	29.3±1.3	50.5±1.3	58.4±2.2
B ₁ ^{-/-}	1.5 ± 0.7*	2.5 ± 1.2*	4.9 ± 1.1*	32.6±3.3	49.1±2.4	53.7±2.5
B ₂ ^{-/-}	0.7 ± 0.5*	5.8 ± 1.8*	8.0 ± 1.9*	31.0±2.1	44.4±3.8	51.7±3.0

Values are mean±epm, *P<.05 vs WT

Constrictor responses to Ang II were reduced in B₂^{-/-} (1.3 ± 0.9*, 1.5 ± 0.8*, 2.0 ± 0.1*) when compared to B₁^{-/-} (6.6 ± 0.5, 7.0 ± 1.0, 7.2 ± 1.2) and WT (5.7 ± 0.7, 6.7 ± 1.3, 6.6 ± 0.9) at doses of 50, 100 and 200 pmol, respectively. No significant differences were observed for NA responses (5-100 nmol). Plasma NO levels [µM] were reduced in B₁^{-/-} (50 ± 11*) and B₂^{-/-} (67 ± 3*) when compared to WT (142 ± 17), while NOS activity (pmol/mg.min) was higher in the mesentery of B₁^{-/-} (1.7 ± 0.6*) and B₂^{-/-} (1.2 ± 0.3*) vs WT (0.4 ± 0.02)(*P<.05). **Discussion:** The endothelial dysfunction accompanied by decreased circulating NO and augmented NOS activity suggest the exacerbation of NO inactivation in both B₁^{-/-} and B₂^{-/-}. B₂ gene deletion might affect negatively the Ang II mediated signaling in vascular cells. These data may point to new approaches in the field of the interactions among angiotensin, kinin and NO systems. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq.

04.071

Endothelium modulates the vascular relaxation induced by the nitric oxide donor. Bonaventura, D.¹; Lunardi, C. N.¹; Rodrigues, G. J.²; Neto, M. A.¹; De Lima, R. G.¹; Da Silva, R. S.¹; Bendhack, L. M.¹ ¹FCFRP-USP - Física e Química; ²FMRP-USP – Farmacologia

Nitrosyl ruthenium complexes have been characterized as nitric oxide (NO) donors that induce relaxation in denuded rat aorta. They have some differences in the vascular relaxation mechanisms when compared to sodium nitroprusside. In this study we aimed to investigate if endothelium alter the $[\text{Ru}(\text{terpy})(\text{bdq})\text{NO}^+]^{3+}$ -TERPY vascular relaxation. We have analyzed the maximal relaxation (E_{max}) and potency (pD_2) of TERPY. Vascular reactivity experiments showed that the endothelium negatively modulates (pD_2 : 6.17 ± 0.07) the TERPY relaxation in intact rat aortic rings when compared to denuded rat aorta (pD_2 : 6.65 ± 0.07). This effect was abolished by a non-selective NO-synthase (NOS) inhibitor L-NAME (pD_2 : 6.46 ± 0.10), by the superoxide anion (O_2^-) scavenger Tiron (pD_2 : 6.49 ± 0.08), and by an NOS cofactor BH_4 (pD_2 : 6.80 ± 0.10). The selective dye for O_2^- (DHE) shows that TERPY enhances O_2^- concentration in isolated endothelial cells (intensity of fluorescence (IF): 11258.00 ± 317.75) as compared to the basal concentration (IF: 7760.67 ± 381.50) and this enhance was blocked by L-NAME (IF: 8892.33 ± 1074.41). Considering that TERPY could induce uncoupling NOS producing O_2^- , we have also investigated the involvement of prostanoids in the negative modulation of endothelium. The non-selective cyclooxygenase (COX) inhibitor (indomethacin) and selective thromboxane (TXA_2) receptor antagonist (SQ 29548) reduced the effect of endothelium on Terpy relaxation (pD_2 INDO: 6.80 ± 0.17 and SQ 29548: 6.85 ± 0.15 , respectively). However, a selective prostaglandin F_{2a} receptor antagonist (AH 6809) did not change the endothelium effect. Moreover, TERPY enhanced the concentration of TXA_2 stable metabolite (TXB_2), which effect was blocked by L-NAME and TIRON. The present findings indicate that TERPY induces uncoupling of eNOS enhancing O_2^- concentration. This enhances in O_2^- concentration induces COX activation, producing TXA_2 that negatively modulates the rat aorta relaxation induced by the NO donor TERPY. Apoio Financeiro: FAPESP and CNPq

04.072

Efeito relaxante de peptídeos natriuréticos em corpos cavernosos humanos. Nascimento, N. R. F.¹; Sousa, C. M.²; Cunha, K. M. A.³; Cerqueira, J. B. G.⁴; Havt, A.³; Santos, C.F.⁵; Fonteles, M. C.⁶ ¹UECE - Medicina Veterinária; ²UECE - Ciências Fisiológicas; ³UFC - Farmacologia e Fisiologia; ⁴UECE - Ciências Biomédicas; ⁵UECE - Medicina; ⁷Universidade Presbiteriana Mackenzie - Fisiologia e Farmacologia

Peptídeos natriuréticos são agonistas de receptores de membrana (GC-A;GC-B;GC-C) acoplados a guanilato ciclase que elevam os níveis intracelulares de GMPc. Este trabalho pretende investigar peptídeos natriuréticos podem promover relaxamento de Corpos cavernosos humanos (CCH). Foram utilizadas tiras de CCH, obtidos de cadáveres humanos submetidos a cirurgia para coleta de órgãos para transplante. Os protocolos foram submetidos e aprovados Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UFC e CEP-UECE). Os tecidos foram montados em banho contendo solução de Krebs Henseleit aquecida a 37°C, aerados com mistura carbogênica (95%O₂-5%CO₂) e ligado a um polígrafo através de transdutores de força, sob tensão de 1g. Após 1 h de estabilização, os tecidos foram contraídos com fenilefrina 1μM e foram realizadas curvas dose-resposta para o ANP (10pM-30nM), UGN (10pM-1μM) e STa (0,1pM-1μM). Em outro protocolo, os tecidos forma incubados por 30 min com inibidor de guanilato ciclase de membrana, a isatina 10μM, e comparadas às respostas anteriores. Foram avaliadas, em fragmentos de CCH, a expressão de receptores de membrana acoplados a via guanilato ciclase através de RT-PCR. Os primers utilizados foram: GC-A, GC-B, GC-C e NPR-C. E quantificamos através de, método de elisa, os níveis dos nucleotídeos AMPc e GMPc expostos a ANP (1μM) e UGN (10μM). ANP, STa e UGN relaxaram as tiras de corpos cavernosos humanos de maneira dose-dependente, sendo as respostas máximas encontradas: 48,92 ± 4,80% (PD₂ 9,1), 45,03 ± 7,50% (PD₂ 8,6) e 40,44 ± 8,20% (PD₂ 9,1) (*p<0,05 vs. controle, ANOVA seguido de Tukey, n=4) para o ANP, STa e UGN, respectivamente. E quando na presença da isatina, as respostas relaxantes foram diminuídas a 25,53 ± 5,04%, 24,68 ± 3,11% e 19,98 ± 17,00% (*p<0,05), para o ANP, STa e UGN, respectivamente. As isoformas GC-A,GC-B e NPR-C foram expressas nos tecidos estudados. E os níveis de GMPc (pmol/mg de proteína) foram elevados a partir de um valor controle de 9,72±1,36 para 62,95± 5,72 (UGN) e 56,97±9,35 (ANP) (**p<0,01 vs. controle, ANOVA seguido de Tukey (n=4 em duplicata). ANP, STa e UGN relaxaram tiras de corpos cavernosos humanos e foram potenciados por vardenafila. Além do mais, os receptores de membrana, GC-A, GC-B e NPR-C, encontraram-se expressos em CCH. As isoformas guanilato ciclase de membrana e o receptor NPR-C podem se constituir importantes alvos para o tratamento da disfunção erétil masculina em associação a inibidores de PDE5, por elevarem as concentrações intracelulares de GMPc e promoverem relaxamento de corpos cavernosos humanos. Apoio Financeiro: CAPES

04.073

Complexo nitrosil rutênio relaxa corpos cavernos de coelhos liberando radical óxido nítrico e aumentando GMPc e AMPc intracelulares. Santos, C.F.¹; Cerqueira, J. B. G.²; Sousa, C. M.³; Lopes, L. G. F.⁴; Silva, L. F. G.⁵; Nascimento, N. R. F.⁶ ¹UECE - Medicina; ²UECE - Ciências Biomédicas; ³UECE - Ciências Fisiológicas; ⁴UFC - Química Orgânica e Inorgânica; ⁵UFC - Cirurgia; ⁶UECE - Medicina Veterinária

Disfunção endotelial, caracterizada pela deficiência endógena de óxido nítrico (NO), provoca 56% de resistência ao tratamento da disfunção erétil pelos inibidores da PDE-5. Novas formas de tratamento são necessárias para este grupo de pacientes. O presente estudo avaliou o relaxamento, in vitro, induzido por novas substâncias doadoras de óxido nítrico (NO) do complexo nitrosil-rutênio, trans-[Ru(NH₃)₄(cafeína)(NO)]C₁₃ (Rut-Caf) e nitroprussiato de sódio (SNP) na musculatura lisa do corpo cavernoso de coelho. Os tecidos, imersos em sistemas de banhos isolados em solução de KHS (pH 7,4, a 37°) foram pré contraídos com fenilefrina (PE; 1 µM) e curvas de concentração- resposta (1 pM- 100 µM) foram obtidas para todas as substâncias. Para esclarecer o mecanismo de ação envolvido no relaxamento induzido pelos agentes, foram adicionadas aos banhos as substâncias: ODQ (3 µM, 10 µM, 30 µM e 100 µM), oxihemoglobina (3 µM e 10 µM), L-cisteína (100 µM), hidroxicoBALAMINA (100 µM), glibenclamida (10 µM), iberiotoxina/apamina (0,1 µM). Amostras dos tecidos foram congeladas em nitrogênio líquido para mensurar a quantidade de GMPc e AMPc produzido pelas substâncias estudadas no processo de relaxamento. Todas as substâncias provocaram relaxamento significativo dos corpos cavernosos. A adição de ODQ (30 e 100 µM) aos banhos inibiu totalmente o efeito relaxante das substâncias estudadas. O removedor extracelular de óxido nítrico (NO) oxihemoglobina diminuiu o efeito relaxante das substâncias. Na dose de 3 µM o efeito máximo das substâncias (E_{max}) foi reduzido em média 26% e na dose de 10 µM houve uma redução adicional de 50% (p<0,05) sem aboli-los totalmente. O removedor específico do ânion nitroxil, L-cisteína (100 µM) falhou em alterar o relaxamento induzido pelos agentes estudados. O removedor do radical livre do óxido nítrico, hidroxicoBALAMINA, aboliu o efeito relaxante da Rut-Caf. A glibenclamida aumentou a resposta máxima para Rut-Caf de 68,1±9,0% para 91,7±7,1% (P<0.05) e alterou os valores de PD₂ de 5.2 [5,8-4,6] para 7,3[7,8-6,8]. A combinação iberiotoxina/apamina não alterou a resposta relaxante à Rut-Caf. Os níveis de GMPc (pmol/mg de proteína) variaram de valores controle de 8,26±2,92 para 83,5±1,8 após exposição a SNP (1 µM) e 143,5±29,98 após exposição a Rut-CAF (10 µM). Além disso Rut-CAF também aumentou os níveis de AMPc (pmol/mg de proteína) de 117,3±7,9 para 515,4±104,4 (Rut-CAF; 10 µM) comparado com 1933,9±116 produzido por forskolina (1 µM). Rut-CAF relaxa RbCC através da via NO-GMPc e é potencializado por glibenclamida (devido seu poder redutor). O efeito relaxante depende de liberação de NO e radical NO⁻ e da produção de GMPc e AMPc. Este aumento de AMPc talvez seja devido à cafeína da molécula ou secundária ao aumento de GMPc que inibe as PDEs mistas AMPc/GMPc como a PDE3.

04.074

Alterations in rat atrial rate and contractile force caused by *Bothrops alternatus* snake venom. Dias, L.; Rodrigues, M. A. P.; da Silva, D. A.; Smaal A.¹; Rennó, A. L.; Hyslop, S.¹ UNICAMP – Farmacologia

Introduction: *Bothrops* snake venoms produce coagulopathy, systemic hemorrhage, shock and renal failure, but little is known about the direct cardiac effects of these venoms. In this work, we investigated the cardiotoxicity of *Bothrops alternatus* in rat isolated right atria. **Methods:** Male Wistar rats (300-400 g) were anesthetized with isoflurane, exsanguinated and the hearts quickly removed and placed in modified Krebs–Henseleit solution (KH). The atria were dissected free and mounted under a resting tension of 1 g in a 10 ml organ bath containing KH. Changes in contractile force after the addition of venom were measured isometrically (PowerLab recording system, ADInstruments) and atrial rate (beats/min) was calculated from this record. Creatine kinase (CK) and creatine kinase MB (CK-MB) levels were measured using commercial kits. At the end of the experiments, the atria were fixed and processed for histological analysis. The results (mean±S.E.M.) were compared statistically with Student's *t*-test or ANOVA followed by the Tukey-Kramer test. A value of $p < 0.05$ indicated significance. **Results:** Venom (0.5, 1.0 and 2.0 mg/mL; $n=7-9$) produced a progressive decrease in contractile force, with a maximum reduction of ~70% (from 0.13 ± 0.02 g to 0.04 ± 0.01 g; $p < 0.05$) after a 60 min incubation with 1 mg/mL; the responses to the other two venom concentrations were not significantly different from this. There were no significant changes in atrial rate with any of the venom concentrations. Similarly, there were no significant changes in the frequency and contractile force of control atria incubated with KH alone. There were significant ($p < 0.05$) increases in CK (from 5.5 ± 1.1 to 22.1 ± 1.4 U/mL for 0.5 mg/mL, from 5.8 ± 0.7 to 18.0 ± 2.0 U/mL for 1.0 mg/mL, and from 4.9 ± 1.8 to 46.1 ± 6.4 U/mL for 2 mg/mL; $n=7$ each) and CK-MB (from 0.4 ± 0.1 to 0.8 ± 0.1 U/mL for 0.5 mg/mL, from 0.3 ± 0.1 to 1.0 ± 0.2 U/mL for 1 mg/mL, and from 0.6 ± 0.2 to 2.9 ± 0.8 U/mL for 2 mg/mL; $n=7$ each) after 60 min. Histological analysis showed extensive myonecrosis with all venom concentrations. The decrease in contractile force was not significantly affected by exhaustive dialysis (24 h, 4°C; membrane nominal cut-off ~2 kDa), but was abolished by heating the venom (100°C, 10 min). **Conclusion:** These results indicate that *B. alternatus* has a deleterious, direct effect on atrial contractility (negative inotropism), but little action on atrial rate (chronotropism). The decrease in contractility probably involves muscle fiber damage, as shown by the release of marker enzymes and histological analysis. Apoio Financeiro: Financial support: CNPq, FAPESP.

04.075

Circulating cell free dna release is related to the severity of Acute Pulmonary Thromboembolism (APT). Uzuelli, J. A.; Dias-Júnior, C. A. C.; Izidoro-Toledo, T. C.; Tanus-Santos, J. E. FMRP-USP – Farmacologia

Introduction: Circulating nucleic acids are present in small amounts in the plasma of healthy individuals. However, increased levels in the plasma have been reported in a number of clinical disorders like cancer, stroke, myocardial infarction, and others. In the acute pulmonary thromboembolism (APT) there is tissue injury and consequently cellular apoptosis. This could cause the elevated plasma DNA levels. However, a precise relationship between the plasma levels of cell-free DNA and the severity of APT has not been addressed yet. **Methods:** APT was induced in mongrel dogs with increasing autologous blood clots volumes (0, 1, 3, and 5 ml/kg) injected into the right atrium (Control, Emb1, Emb3, and Emb5 groups, respectively). Haemodynamic evaluations were carried out for two hours. Plasma cell-free DNA was extracted by QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) and it was quantified by fluorometric assay. **Results:** Control group showed no significant changes throughout study period. APT produced dose-dependent pulmonary hypertension. Mean pulmonary arterial pressure increased from 10 ± 3 mmHg to 18 ± 4 , 25 ± 3 and 29 ± 2 mmHg in Emb1, Emb3 and Emb5 groups, respectively. Correspondingly, the DNA increased from $1,8\pm 0,3$ ng/mL concentration in SHAM group to $4,4\pm 0,8$; $9,7\pm 3,4$ and $24\pm 6,6$ ng/mL in Emb1, Emb3 and Emb5 groups, respectively. **Discussion:** Our findings suggest that circulating cell free DNA increases after APT depend on the severity of lung embolization, thus suggesting that cell free DNA could be a marker of severity in APT. Apoio Financeiro: CAPES and CNPq

04.076

Nitric oxide synthase-1/soluble guanylate cyclase protein:protein association is critically involved in sepsis-induced loss of vascular response to vasoconstrictors. Nardi, G. M.¹; Oliveira S. K.²; Fernandes, D.³; Assreuy, J.² ¹UNOESC-ACBS; ²UFSC - Farmacologia; ³UEPG - Ciências Farmacêuticas

Introduction: Nitric oxide (NO) is one of the main mediators in sepsis and thought to be mostly derived from NOS-2. In the present report, it was studied the contribution of NOS-1 to the vascular hyporesponsiveness of sepsis and the role of protein:protein interaction with soluble guanylate cyclase (sGC). In addition, the consequences of NOS-1 inhibition on sepsis hemodynamics were evaluated. **Methods:** Sepsis was induced by cecal and ligation surgery (CLP). Controls were sham-operated (SHO, not ligated nor punctured) or naïve (NAI) Wistar female rats. Vascular reactivity was evaluated by injections of phenylephrine (PHE) 6, 12 and 24 h after surgery, in the presence or absence of the selective NOS-1 inhibitor 7-NI or the non-selective NOS inhibitor, L-NAME. Co-immunoprecipitation and blotting studies were done in muscle, kidney and mesentery. Cyclic GMP was measured by ELISA in the aorta. **Results:** The response to PHE (30 nmol/kg) was decreased by CLP (34.2 ± 2.6 SHO versus 21.7 ± 3.5 mmHg 6 hours after CLP). Injection of 7-NI 24 hours after CLP slightly changed BP (69.1 ± 2.8 to 76.6 ± 4.6 mmHg), without affecting BP of SHO or NAI animals. In contrast, L-NAME increased BP of CLP (69.4 ± 2.9 to 107.6 ± 9.7) and NAI (97.5 ± 3.3 to 146.9 ± 4.8) animals. 7-NI administered 6 hours after surgery increased responses to PHE in CLP animals (123 % and 70.6%, 3 and 10 nmol/kg after surgery respectively). 7-NI treatment reduced cGMP by 70% in aorta of CLP animals 6h after surgery. NOS-2 and sGC protein:protein association in the skeletal muscle and mesentery was increased by sepsis. Smooth muscle cells produced NO when activated by LPS+interferon (43.1 ± 2.1 μ M). This NO production was not affected by 7-NI except when in high concentrations, but was completely inhibited by Aminoguanidine. The vasoconstrictive effect of norepinephrine infusion was enhanced by 20% in CLP animals treated with 7-NI. **Discussion:** Our results demonstrate that doses that selectively blockage NOS-1 restores vascular reactivity to PHE and norepinephrine during sepsis. The effect of NOS-1-derived NO was dependent on sGC. Very important however is the hitherto demonstration that sepsis increases the protein:protein interaction between NOS-1 and sGC and that this association seems to be crucial for the hyporeactivity to vasoconstrictors. In addition, NOS-1 can be an important player concerning NO production and vascular derangement in sepsis. Therefore, inhibition of NOS-1 can be an attractive alternative to improve vasoconstrictor response during sepsis. Apoio Financeiro: Financial support: UNOESC, FAPESC, CNPq, PRONEX e CAPES

04.077

Efeito vasodilatador do novo doador de óxido nítrico (Ru-4MPy). Não é prejudicado após funcionalizar nanopartículas de ouro. Silva, B. R.¹; Lunardi, C. N.²; Da Silva, R. S.²; Bendhack, L. M.² ¹FMRP-USP - Farmacologia; ²FCFRP-USP Física e Química

Introdução: Nanopartículas de ouro, sintetizadas e funcionalizadas com o novo complexo de rutênio doador de óxido nítrico (NO) Cis-[Ru(bpy)₂(NO)(4MPy)].(PF₆)₃, (4MPy=4-Mercaptopiridina, bpy=1,2'bipiridina), também denominado Ru-4MPy, originaram o nanocomposto AuNP-Ru-4MPy, cuja capacidade de induzir o relaxamento das células do músculo liso vascular (CMLV) de aortas de ratos mantém-se inalterada em relação ao relaxamento induzido pelo complexo de rutênio doador de NO sem ouro (Ru-4MPy). **Objetivo:** Verificar tanto a participação da via NO-guanilato-ciclase (GCs)-GMPc quanto o efeito do composto sobre a concentração de Ca²⁺ citoplasmático ([Ca²⁺]_c) no relaxamento vascular induzido pelo doador Ru-4MPy em CMLV de aorta de ratos e a possível alteração do efeito do composto na forma de nanopartícula de AuNP-Ru-4MPy. **Métodos:** Ratos (180-200g) foram sacrificados e suas aortas removidas. Após remoção mecânica do endotélio, anéis das aortas foram montados em sistema para registro da tensão isométrica e foram pré-contraídos com a EC₅₀ da fenilefrina (100nM), e sobre a contração mantida, realizamos curvas concentrações-efeito cumulativas de relaxamento do composto Ru-4MPy na presença e ausência do inibidor da GCs (ODQ, 1μM), do composto contendo a nanopartícula (AuNP-Ru-4MPy) e da nanopartícula de ouro pura não funcionalizada. Analisamos os parâmetros farmacológicos de potência (pD₂) e eficácia (Emax) do composto em induzir relaxamento da aorta. A [Ca²⁺]_c foi medida nas CMLV com sonda fluorescente FLUO-3AM (10 mM-510nm) excitada em 480nm utilizando microscópio de fluorescência e os dados expressos em diferenças na intensidade de fluorescência (%ΔFI). **Resultados:** O composto Ru-4MPy relaxou totalmente a aorta pré-contraída com fenilefrina, e este efeito foi concentração-dependente (Emax: 101,9±0,8%; pD₂: 6.53±0.109; n=5). A inibição da GCs com ODQ reduziu (P<0,05) tanto o Emax (13,1±5,1%) como pD₂ (3.73±0.1, n=3). O NO liberado pelo composto Ru-4MPy (10 mmol/L) foi capaz de reduzir a [Ca²⁺]_c (%ΔFI= -5,84±0,54%, n=3, P<0,05) em relação ao controle. O relaxamento induzido pelo composto AuNP-Ru-4MPy foi semelhante ao obtido com o composto Ru-4MPy, (Emax:105,2±0,8%, pD₂:6.50±0.06; n=4). Por outro lado, as nanopartículas puras não induziram relaxamento vascular (Emax: 8,9±4,6%; n=4, P<0,05). **Discussão:** O relaxamento vascular induzido pelo Ru-4MPy envolve a ativação de GCs e redução da [Ca²⁺]_c. A funcionalização do composto em nanopartículas de ouro (AuNP-Ru-4MPy) não causa prejuízo ao seu efeito relaxante e somente a nanopartícula não causa efeito relaxante na aorta de ratos. Apoio Financeiro: Apoio Financeiro FAPESP, CAPES e CNPq.

04.078

Dissociation between APE-induced increase in pulmonary vascular resistance index and serum cardiac troponin I. Cau, S. B. A.; Dias-Júnior, C. A. C.; Tanus-Santos, J. E. ¹FMRP-USP – Farmacologia

Introduction: Acute pulmonary embolism (APE) is a severe clinical condition with high mortality. The main cause of APE-induced death is right ventricular failure (RVF). The right ventricle response to APE can be explained by the increased pulmonary vascular resistance and a corresponding abrupt increase in right ventricular afterload. Cardiac troponin I (cTnI) concentrations are considered a reliable marker of cardiac dysfunction associated with poor adverse prognosis and increased risk of death. We investigated if the reduction on the pulmonary vascular resistance caused by a pulmonary vasodilator – BAY 41-2272, could attenuate APE-induced RVF. **Methods:** All the procedures were approved by the Ethics Committee of FMRP-USP (protocol number 102/2006). The effects of the infusion of BAY 41-2272 in hemodynamic changes caused by APE were examined in anesthetized dogs. APE was induced by stepwise intravenous injections of 300 μ m microspheres in amounts adjusted to increase mean pulmonary artery pressures (MPAP) by 20 mmHg. Hemodynamic evaluation was performed at baseline, 15, and 30 min after APE had been induced, and then 15, 30, 45 e 60 min after the BAY 41-2272 infusion was started in the Emb+BAY group (0.03, 0.1, 0.3, 1.0 mg/kg/h IV; n=8), or vehicle infusion was started in the Control group (n=9) and 75 min after all doses of BAY 41-2272 or vehicle (final). To evaluate the right ventricular responses, arterial blood samples were drawn for dosage of serum troponin I levels at baseline and final time point and the right ventricular systolic work index (RVSWI) was calculated. **Results:** The animals in the control group showed no further changes in main pulmonary arterial pressure (MPAP) and pulmonary vascular resistance index (PVRI). The intravenous increased doses of BAY 41-2272 showed selective pulmonary effects, a significant decrease in MPAP and PVRI (-17% and -30%, respectively; P<0.05 both). However, the highest dose of BAY 41-2272 caused systemic hypotension (a 27% significant decrease in main arterial pressure, MAP, and 36% decrease in systemic vascular resistance index, SVRI). APE produced a marked increase in serum cardiac troponin I levels while treatment with BAY 41-2272 did not attenuate this increase (249% and 130%, respectively; P<0.05 both). Similarly, the APE-induced increased RVSWI was not attenuated by the infusion of BAY 41-2272. **Conclusion:** Our results suggest that although BAY 41-2272 attenuated pulmonary hypertension induced by APE, this effect was not followed by lower cardiac dysfunction as it was showed by similar cardiac troponin I levels in both embolized groups (Emb and Emb+BAY). Apoio Financeiro: FAPESP, CAPES e CNPq

04.079
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.080

Effects of potassium-sparing diuretics in adrenergic contractile mechanisms in mice cavernosal smooth muscle. Claudino, M. A.¹; Carvalho, F. D. G. F.¹; Capel, R. O.¹; Antunes, E.¹; Lopes, A. G.²; Nucci, G. de¹ ¹UNICAMP - Farmacologia; ²UFRJ-IBCCF - Fisiologia Renal

Introduction: Erectile dysfunction (ED) is a highly prevalent health problem that impacts on the quality of life of the patients. Several diuretics have been associated with sexual dysfunction in men, including decreased libido, difficult ejaculation and ED, but these adverse mechanisms remain poorly understood (Dusing, 2005). The aim of present study was to evaluate the effects of potassium-sparing diuretics on the contractile responses of the α_1 -adrenoceptor agonist phenylephrine in mice isolated corpus cavernosum smooth muscle. **Methods:** Male C57BL/6 mice (25–30g) were anaesthetized and corpus cavernosum removed. Concentration-responses curves to phenylephrine (PE; 10 nM–100 μ M) in corpus cavernosum were obtained in the absence (control) or in presence of amiloride (100 μ M), triamterene (100 μ M), benzamil (100 μ M) and hexamethylamiloride (HMA-100 μ M). The values of potency (pEC_{50}) and maximal responses (E_{max}) were calculated. **Results:** Cumulative addition of the PE produced concentration-dependent contractile responses in the mice cavernosal tissues. Amiloride and triamterene promoted a significant reduction in the potency for PE (5.46 ± 0.08 and 5.56 ± 0.11 , respectively) compared with control groups (5.79 ± 0.02), without affecting the maximal responses. The specific Na^+/H^+ exchanger blocker HMA caused a significant reduction in the potency (5.26 ± 0.09) and of maximal responses (0.46 ± 0.02 and 0.16 ± 0.02 mN for control and HMA, respectively). The specific epithelial Na^+ channel blocker benzamil caused no significant alterations in potency for PE (5.67 ± 0.12), but significantly reduced the maximal responses (0.36 ± 0.04). **Conclusion:** The mechanisms by which potassium-sparing diuretics distinctively altered PE-induced contractions in mice corpus cavernosum smooth muscle are possibly related to changes in the pHi and $[Ca^{2+}]_i$ content.

04.081
PRÊMIO INOVAÇÃO

04.082
PRÊMIO INOVAÇÃO