

Farmacologia da Inflamação e da Dor

04.001

DETECTOR ELETRÔNICO DE PRESSÃO (DEP): MÉTODO PARA ESTUDO DE NOCICEPÇÃO MECÂNICA EM CAMUNDONGOS. Cunha, T.M.; Ferreira, S.H.; Cunha, F.Q. Depto. Farmacologia FMRP-USP.

INTRODUÇÃO: Um dos maiores problemas no estudo da nocicepção animal é o desenvolvimento de metodologias simples e replicáveis. A maioria dos métodos existentes utiliza o rato como animal experimental. Portanto, é importante desenvolver técnicas para investigar a nocicepção em camundongos, pois a biotecnologia está amplamente desenvolvida para esses animais. A técnica de Von Frey filamentos (VFF) foi transformada em um método eletrônico para determinar pressão em humanos e ratos apresentando grande confiabilidade. Então, o objetivo desse trabalho é adaptação e padronização do DEP em camundongos.

MÉTODOS: O DEP consiste de um anestesímetro eletrônico, ao qual foi adaptada uma ponteira que estimula a pata traseira do animal (camundongos Swiss 25-30g), provocando uma resposta de flexão característica, com retirada da pata, momento em que o estímulo é interrompido. O VFF foi utilizado para validação dos resultados.

RESULTADOS: Os resultados foram expressos como Δ do limiar de estímulo mecânico (g) obtido pela diferença do limiar antes e 3 h após os tratamentos para o DEP e Δ log da força (g) para o VFF. A injeção intraplantar de carragenina (30, 100 e 300 μ g) induziu hiperalgesia mecânica dose-dependente quando avaliada no DEP ($7,8 \pm 1,2$; $7,7 \pm 0,6$; $10,1 \pm 0,6$ g, respectivamente) e no VFF ($0,2 \pm 0,04$; $0,6 \pm 0,2$; $1,3 \pm 0,3$ g, respectivamente) quando comparado com o grupo tratado com salina ($0,7 \pm 0,8$; $0,1 \pm 0,06$ g, respectivamente).

DISCUSSÃO: Obteve-se alta reprodutibilidade nos experimentos, sugerindo que o DEP é um método conveniente para estudos de hiperalgesia mecânica em camundongos.

APOIO FINANCEIRO CNPq

04.003

COMPARAÇÃO DA RESPOSTA NOCICEPTIVA (COMPORTAMENTAL) E EDEMATOGÊNICA À FORMALINA ENTRE RATOS WISTAR E HOLTZMAN. Noman-Ferreira, L.C. e Francischi, J.N. Depto. Farmacologia-ICB-UFMG-BELO HORIZONTE, MG

Introdução: Variáveis como raça, sexo, clima, etc, interferem na intensidade da resposta à dor mensurada. O objetivo deste trabalho foi comparar as respostas nociceptivas e edematogênicas em duas linhagens de ratos. **Métodos:** Ratos ($n=5$ /grupo), das linhagens Holtzman e Wistar, pesando entre 140-180g foram utilizadas. Formalina (0.625-2.5 %) foi injetada intraplantarmente (0.05 mL). A resposta nociceptiva (tempo de permanência com a pata elevada) foi avaliada em intervalos de 5 min até 180 min da injeção, sob temperatura constante (25°C). Animais controle foram injetados com igual volume de salina fisiológica estéril. Medidas de edema (em mL) das

patas dos animais foram obtidas em pletismômetro Ugo Basile. **Resultados:** Ratos Holtzman e Wistar apresentaram respostas nociceptivas e edematogênicas à formalina dose-dependentes, com respostas nociceptivas de primeira fase (0-10 min) de intensidade similar, de aproximadamente 200 s (controles = 0 s). No entanto, as respostas nociceptivas de 2ª fase de ratos Holtzman foram significativamente de maior intensidade do que em ratos Wistar ($221.9 \text{ s} \times 167.4 \text{ s}$, $P<0.05$, teste t ANOVA) na 1ª hora. As respostas edematogênicas foram de intensidade similar nas duas linhagens (aproximadamente 0.25 mL, 1.25% e 0.42 mL, 2.5 %) na 3ª h de estudo, sendo máximas quando a resposta comportamental havia desaparecido. **Conclusões:** Ratos Holtzman apresentam resposta nociceptiva de 2ª fase aumentada em relação à ratos Wistar, embora o edema tenha sido de mesma intensidade. Aparentemente, os mecanismos envolvidos nessas respostas são independentes. Apoio: CAPES, CNPq e FAPEMIG.

04.004

ESTUDO DE GÊNERO ENTRE A ATIVIDADE HIPERALGÉSICA DO SOBRENADANTE DA CULTURA DE CÉLULAS MONONUCLEARES DE IDOSOS HÍGIDOS E ADULTOS JOVENS. Leani, S. M. Pereira; Webster, G. P. Reis; Vanderson, A. Romualdo; Resende, M. A.; Janetti, N. Francischi. Depto. de Farmacologia-ICB-UFMG-Belo Horizonte-MG

Em trabalho anterior verificamos que o sobrenadante obtido da cultura de leucócitos mononucleares de idosos hígidos (SLMi) induziu hiperalgesia em ratos 50% menor quando comparada ao sobrenadante de adultos jovens (SLMj). **Objetivos:** Verificar se existem diferenças, quanto ao gênero, na atividade hiperalgesica (Hip) do SLMi e do SLMj.

Métodos: Participaram do estudo 10 idosos hígidos (média de idade = 71.9 ± 3.8 ; 5 homens e 5 mulheres com I.M.C entre 22-27) e 10 adultos jovens hígidos, média de idade = 25.3 ± 0.8 anos; 5 homens e 5 mulheres com I.M.C padrão. Foram colhidos 10 ml de sangue da veia ulnar mediana do antebraço direito de cada participante. Os leucócitos mononucleares foram purificados através de gradiente de centrifugação ($\geq 95\%$ de pureza). As células foram incubadas com 250 μ g de carragenina (Cg) λ em RPMI (1.0 ml) pH = 7.4 e 10% de soro bovino, por 2 horas, em placas de cultura e câmara de CO₂. O sobrenadante foi guardado congelado (-15°C) até a utilização. Sobrenadantes de células sem adição de Cg constituíram os controles. Foram administrados 0.1 ml dos sobrenadantes na pata de ratos e a hiperalgesia foi medida até 24 horas, através do método de Randall-Sellitto (trabalho aprovado pelo comitê de Ética local).

Resultados: A atividade hiperalgesica do SLMi (Feminino = 30.6 ± 0.8 ; Masculino = 35.0 ± 0.9) e do SLMj (Feminino = -66.5 ± 1.0 ; Masculino = 67.8 ± 1.9), $P>0.05$, avaliadas pelo teste t ANOVA

Conclusões: Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre a atividade hiperalgesica dos sobrenadantes, quanto ao gênero, da cultura de células mononucleares de

idosos hígidos e adultos jovens. Apoio: FAPEMIG, CNPq, CAPES

04.005

PAPEL DAS INTERLEUCINAS NA NOCICEPÇÃO E EDEMA INDUZIDOS PELA INJEÇÃO INTRAPLANTAR DE GLUTAMATO EM CAMUNDONGOS. Beirith, A.; Calixto, J.B. Depto de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC

Objetivo: Foi demonstrado que a injeção intraplantar (i.pl.) de glutamato provoca nocicepção acompanhada de edema em camundongos. Vários receptores glutamatérgicos estão envolvidos na resposta nociceptiva, mas apenas os receptores não-NMDA acoplados a canal iônico parecem ter participação no edema, enquanto a via da L-arginina/óxido nítrico participa de ambas respostas. Neste trabalho, será avaliado o papel das interleucinas 1 β e 10 (IL-1 β e IL-10) e da migração de leucócitos na nocicepção e edema induzidos por glutamato.

Métodos e resultados: Foram utilizados camundongos suíços machos (30-40 g, n: 6-8) e os resultados estão expressos como a média \pm e.p.m.. Um grupo de animais foi tratado com glutamato (30 μ mol/20 μ l, i.pl.), sacrificado após 15 min e a medula espinhal e o tecido muscular da região plantar da pata tratada foram removidos para medida da IL-1 β . A injeção i.pl. de glutamato aumentou o nível de IL-1 β na medula espinhal (1,5 vezes). A co-injeção de IL-10 (10-50 ng/pata) ou do anticorpo anti-IL-1 β (50-100 ng/pata) ou ainda, o tratamento com fucoidina (25 mg/kg, 5 dias, e.v.) reduziram significativamente a nocicepção causada pelo glutamato (40 ± 10 , 23 ± 6 e $46 \pm 8\%$, respectivamente). Ao contrário do observado para IL-10 ou IL-1 β , somente a fucoidina foi capaz de reduzir significativamente ($14 \pm 2\%$) o edema causado por glutamato.

Conclusões: A IL-1 β , IL-10 estão envolvidas com a nocicepção causada pelo glutamato, enquanto o edema de pata parece estar associado, pelo menos em parte, com moléculas de adesão e migração celular.

Apoio financeiro: CNPq, FINEP, CAPES e PRONEX

04.006

MEDIADORES ENVOLVIDOS NA DOR OROFACIAL INDUZIDA POR FORMALINA EM RATOS. Chichorro, J. G.; Lorenzetti, B. B.; Zampronio, A. R. Depto. Farmacologia, UFPR.

Introdução: Avaliamos a participação de diversos mediadores na dor induzida por formalina (Form) na região trigeminal. **Método:** Form foi injetada no lábio superior de ratos Wistar machos e os animais observados de 0-3 min (fase I) e de 12-30 min (fase II). Os tratamentos foram feitos no local ou por via ip. O índice de nocicepção foi representado pelo tempo de fricção do local. Dados mostram % máxima de redução ou potenciação. **Resultados:** O tratamento com BQ123 (1-10nmol) ou HOE140 (0,1-10mg/kg) reduziu as fases I (45 e 67%) e II (49 e 46%), respectivamente, da resposta à Form 2,5%. A fase II desta resposta foi reduzida pelo tratamento com meloxicam (0,3125-5mg/kg, 55%), celecoxibe (1-

10mg/kg, 51,5% ou 12,5-200µg, 52%), atenolol (6,25-100µg, 56%), guanetidina (30mg/kg, 54%), DALBK (0,5-2µg, 43%), meclisina (12,5-200µg, 62%), anticorpo anti-fator de necrose tumoral α (TNF- α) (46%), anti-interleucina (IL)-1 β (48%), anti-IL-6 (47%) e anti-IL-8 (43%). Por outro lado, a fase II da resposta à Form 0,625% foi potenciada pelo tratamento com captopril (5mg/kg, 87%), prostaglandina (PG) E₂ (50ng, 79%), tiramina (200µg, 46%), TNF α (1,25-5pg, 72%), IL-1 β (0,125-0,5pg, 61%), IL-6 (1-2ng, 84%) ou IL-8 (100 e 200pg, 70%). Indometacina (2 e 4mg/kg ou 100 e 300µg), MK 886 (0,3-3,0mg/kg) e BQ788 (3 e 10nmol) não modificaram a resposta. Conclusão: Estes dados sugerem a participação da bradicinina (BK, via receptores B₂) e endotelina (via receptores ET_A), em ambas as fases, e de PGs, geradas via COX-2, aminas simpatomiméticas, BK (via receptores B1), histamina e citocinas na fase II da resposta à Form orofacial.

Apoio Financeiro: CAPES-FAPESP

04.007

PARTICIPAÇÃO DA ENDOTELINA (ET) NA HIPERALGESIA MECÂNICA (HM) INDUZIDA PELA IL-18. Verri Jr, WA; Schivo, IRS; Rosa, SR; *Liew, EF; Cunha, FQ & Ferreira, SH - Depto Farmacologia, FMRP/USP. *Dept Immunology, University of Glasgow, UK

INTRODUÇÃO Tem-se demonstrado que a IL-18 participa na patogênese da artrite reumatóide. No entanto, sua função na hiperálgia não está bem esclarecida. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o seu possível efeito nociceptivo e a participação das prostaglandinas (PG), mediadores simpáticos (MS), leucotrienos (LT) e ET na HM induzida pela IL-18. **MÉTODOS E RESULTADOS** A intensidade de HM foi avaliada por dois métodos: A- variação no tempo de reação dos animais (Ratos Wistar machos, n=3-7) submetidos a uma pressão constante na pata e B- variação da pressão na pata necessária à reação dos animais. A administração de IL-18 (20, 40 e 60ng/pata) causou HM de maneira dose-dependente (A: 7,0±0,8; 13,9±1,0 e 16,5±1,3. B: 13,3±1,3; 15,7±1,2 e 23,3±1,5) com pico na terceira hora após o estímulo. O tratamento dos animais 30 minutos antes do estímulo hiperálgico (IL-18, 40ng/pata) com indometacina (Indo, 2,5mg/Kg, sc, inibidor da ciclooxigenase), atenolol (Atn, 1mg/Kg, sc, beta bloqueador) ou MK886 (1mg/Kg, vo, inibidor da síntese de LT) não inibiu significativamente a HM induzida pela IL-18 nos dois métodos, já o tratamento com BQ788 (3-30nMoles/pata, antagonista do receptor tipo B para ET) diminuiu a resposta nociceptiva de maneira dose-dependente, sendo a média da inibição na maior dose 78,8%(A) e 52,2%(B). **DISCUSSÃO** Nos dois modelos experimentais apresentados acima, não há envolvimento de PG, MS ou LT na HM induzida pela IL-18, contudo, a inibição dose-dependente pelo BQ788, indica a participação da ET via receptores ET_B. **APOIO FINANCEIRO** CAPES, CNPq, FAPESP e FAEPA

04.008

EFEITO HIPERALGÉSICO DO FATOR DE CRESCIMENTO DO NERVO (NGF). Funez, MI; Schivo, IRS; Rosa, SR; Ferreira, SH; Cunha, FQ. Depto de Farmacologia da FMRP/USP.

Introdução: A hiperálgia inflamatória é relacionada à produção de citocinas, com consequente liberação de leucotrieno B₄ (LTB₄), prostaglandinas (PGs) e aminas simpatomiméticas (AS). Estudos têm sugerido que fatores de crescimento, entre eles o NGF, estão presentes em tecidos após inflamação induzida por diferentes estímulos. O objetivo deste trabalho foi verificar a capacidade do NGF em induzir hiperálgia mecânica bem como os mediadores envolvidos.

Métodos e Resultados: Observamos que a injeção intraplantar (ipl) de NGF (1,5,5,15 ng) induziu hiperálgia mecânica de maneira dose-dependente em patas de ratos (Wistar machos, 180-200g) quando avaliada pelo teste de pressão em patas de ratos (modificação do Randall & Selitto). O pré-tratamento com indometacina (100µg/ipl), atenolol (25µg/ipl), MK886 (1mg/Kg; i.p., inibidor da síntese de LTB₄) ou BQ788 (10pmoles/ipl, antagonista endotelinérgico ET_A) não preveniu o efeito hiperálgico induzido pelo NGF (5ng). Porém, o tratamento com indometacina mais atenolol (mesmas doses) preveniu em 50%. O tratamento ipl com antissoro anti-NGF (50µl) não preveniu a hiperálgia induzida por injeção ipl de carragenina (Cg; 100µg), LPS (1µg), TNF α (2,5pg), IL-1 β (0,5pg) ou IL-8 (0,1ng).

Discussão: Nossos dados indicam que a hiperálgia induzida pelo NGF depende da contribuição sinérgica dos componentes de PGs e AS (efeito da associação indometacina mais atenolol) e parece independe da participação de endotelinas e LTB₄. Além disso, o NGF parece não participar da hiperálgia induzida por Cg, LPS e citocinas (TNF α , IL-1 β , IL-8).

Apoio Financeiro: CAPES, PRONEX.

04.009

HIPERALGESIA MECÂNICA INDUZIDA PELA INTERLEUCINA-12 (IL-12). Molina, R.O.; Schivo, I.R.S.; Rosa, S.R.; Cunha, F.Q. & Ferreira, S.H. Depto. Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP

Introdução: Na literatura tem-se demonstrado que a IL-12 é essencial para o desenvolvimento da resposta imune do tipo Th1 que ocorre durante a artrite reumatóide. Porém, nada consta sobre sua participação na hiperálgia. Assim, o objetivo deste trabalho foi pesquisar a possível efeito nociceptivo da IL-12 na hiperálgia mecânica.

Materiais e Métodos: Os animais utilizados foram Ratos Wistar machos. A intensidade de hiperálgia mecânica foi avaliada por dois métodos: A variação no tempo de reação dos animais submetidos a uma pressão constante na pata e B- variação da pressão na pata necessária para haver reação dos animais. A administração intraplantar de IL-12 foi realizada em três doses 3ng, 10ng e 30ng/pata.

Resultados: A injeção intraplantar de IL-12 indu-

ziu hiperálgia mecânica dose-dependente quando avaliada em A (13,25±0,90; 17,00±0,53; 18,80±0,32, respectivamente) e em B (18,4±2,01; 21,22±1,87; 23,32±1,80, respectivamente), em relação ao grupo tratado com salina avaliados em A (0,82±0,27) e B (1,24±0,60). **Discussão:** Nos dois modelos experimentais apresentados acima, a IL-12 induziu hiperálgia mecânica dose-dependente.

Apoio: CNPq, CAPS e FAPESP.

04.010

HIPERALGESIA INDUZIDA PELA INTERLEUCINA-1 β INTRATECAL E DEPENDENTE DE PROSTAGLANDINAS E SENSIBILIZAÇÃO DO NEURÔNIO AFERENTE PRIMÁRIO. Silva D.B., Schivo I.R.S., Rosa S.R., Cunha F.Q., Ferreira S.H., Depto de Farmacologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP, São Paulo.

INTRODUÇÃO: Resultados obtidos anteriormente em nosso laboratório demonstraram que a interleucina-1 (IL-1) β leva ao estabelecimento de hiperálgia mecânica via indução da ciclooxigenase (COX)-2, com consequente produção de prostaglandina (PG)E₂ a nível periférico. Contudo, dados publicados na literatura sugerem que a hiperálgia decorrente desta citocina envolve apenas componente central. Portanto, o objetivo deste trabalho é investigar, em nosso modelo de hiperálgia, a participação central da IL-1 β na gênese da hiperálgia mecânica e avaliar o envolvimento de PGs no processo. **MÉTODOS e RESULTADOS:** Avaliamos a hiperálgia mecânica utilizando os testes de pressão em pata de ratos (adaptação do Randall & Selitto) e Von Frey eletrônico. A administração i.t. de IL-1 β (0,16 pg) induziu hiperálgia mecânica em ambas as patas traseiras (ratos machos Wistar, 150-200 g). O pré-tratamento com indometacina (100 µg; i.t.) inibiu a hiperálgia nas duas patas traseiras em 93%. Entretanto o pré-tratamento com indometacina intraplantar (i.pl.; 100 µg) inibiu a hiperálgia apenas na pata ipsilateral em 83%. **DISCUSSÃO:** A inibição da hiperálgia pela indometacina i.t. sugere que esta é decorrente da indução da COX-2 pela IL-1 β e consequente produção espinal de PGs. O fato da indometacina periférica (i.pl.) inibir a hiperálgia somente na pata tratada sugere que as prostaglandinas liberadas centralmente estão sensibilizando preferencialmente o neurônio aferente primário. **APOIO FINANCEIRO:** CAPES, FAEPA

04.011

PARTICIPAÇÃO DA 3',5'-ADENOSINA-MONOFOSFATO CÍCLICO (AMPc) NA INDUÇÃO E MANUTENÇÃO DA HIPERSENSIBILIDADE NOCICEPTIVA PERSISTENTE (HNMP). Sachs D., Schivo I.R.S., Rosa S.R., Cunha F.Q., Ferreira S.H. Depto de Farmacologia da F.M.R.P.-USP, São Paulo.

Introdução: Dados anteriores demonstraram que injeções intraplantares (i.pl.) diárias de prostaglandina E₂ (PGE₂) por um período de 14 dias, induz o desenvolvimento de um processo de

HNMP, o qual permanece por um período de pelo menos 30 dias após a suspensão da administração desses agonistas. Visto que o AMPc medeia a hiperalgisia aguda induzida pela PGE₂, o objetivo do presente trabalho é avaliar a possível participação do AMPc na indução e manutenção da HNMP.

Métodos e Resultados: A HNMP foi avaliada utilizando-se o teste de pressão em patas de ratos (Wistar, machos 120-300 g), o qual é uma adaptação do modelo de Randall & Selitto. Observou-se que a injeção i.pl. de pequenas doses de PGE₂ (10 e 30 ng.pata⁻¹) causam hipersensibilidade nociceptiva aguda de pequena intensidade, e não induzem HNMP, quando administradas diariamente durante 15 dias. Entretanto, o tratamento dos animais com rolipram (inibidor de fosfodiesterase; 9 µg.pata⁻¹), 30 minutos antes da administração de PGE₂ em pequenas doses (10 e 30 ng.pata⁻¹), potencializou a hipersensibilidade aguda induzida pelas mesmas (1400% e 113%, respectivamente). Também se observou que a injeção i.pl. diária de pequenas doses de PGE₂ (10 e 30 ng.pata⁻¹) + rolipram (mesma dose), eram capazes de induzir HNMP. Além disso, a administração diária de Dibutiril AMPc (análogo do AMPc) durante 15 dias, foi capaz de mimetizar a HNMP induzida por PGE₂.

Conclusões: Esses dados sugerem que o AMPc participa da gênese da HNMP induzida por PGE₂. Apoio Financeiro: CNPq, FAEPA e FAPESP.

04.012

FENOBARBITAL PERIFÉRICO INIBE HIPERALGESIA SECUNDÁRIA, EVIDENCIANDO A PARTICIPAÇÃO DE RECEPTORES GABA_A. Motta, P. G., Tatsuo, M. A. K. F., Departamento de Farmacologia, ICB-UFMG.

INTRODUÇÃO: Em trabalhos anteriores demonstramos que injeção intraplantar de formalina 5% (FOR) em ratos induz hiperalgisia secundária (HS). Efeito este inibido por Gabapentina, uma droga gabamimética. O presente estudo visa investigar a participação de receptores GABA_A periféricos sobre a hiperalgisia secundária (HS) utilizando Fenobarbital (FENO), um modulador alostérico, e Bicuculina (BIC), um antagonista competitivo deste receptor.

MÉTODOS: Ratos Wistar machos (160-200g) foram tratados com 50µL de FOR, intraplantar (ipl), para induzir HS, que foi avaliada através do teste de retirada de cauda. Os fármacos e o veículo (salina/propileno glicol, na proporção de 70:30) foram administrados pré FOR, em 20µL/ipl.

RESULTADOS e DISCUSSÃO: Os dados serão apresentados como média ± epm (n=6) da área sobre a curva (AUC) para o índice de retirada de cauda (IRC). O grupo controle recebeu veículo pré FOR, apresentando AUC = -17.29±1.00, evidenciando HS. FENO/ipl, administrado 10' antes, nas doses de 20, 40 e 80µg, inibiu de maneira dose dependente a HS, sendo observado os valores de AUC = -4.78±0.54, -0.97±1.29 e +8.84±0.93, respectivamente, evidenciando efeito antihiperalgésico. A administração de 80ng de BIC/ipl, 20' antes de FOR, bloqueou este efeito (AUC = -13.2±1.62). A dose de 80µg de FENO/ipl contralateral não inibiu HS (AUC = -10.03±1.91), excluindo o efeito sistêmico.

CONCLUSÃO: Nossos resultados mostram que

FENO/ipl inibe HS, que foi inibido por BIC/ipl, sugerindo, assim, a existência de receptores GABA_A periféricos.

Apoio: FAPESP

04.013

ESTUDO DA RESPOSTA NOCICEPTIVA RELACIONADA AO SISTEMA SEROTONÉRGICO EM CAMUNDONGOS ATRAVÉS DO TESTE DA CHAPA QUENTE. LCE Zibetti, B Verza, C Ramos, L Schatschneider, R Menguer, S Silveira, V Maldotti, A Machado, R Bernardi – Farmacologia – Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre.

A Serotonina tem papel conhecido na percepção dolorosa. Fármacos como Fluoxetina e L-triptofano aumentam a disponibilidade dessa substância na fenda sináptica, o que nos leva a inferir que tais fármacos possam ter poder analgésico. **OBJETIVO:** Verificar o efeito antinociceptivo da Fluoxetina, do L-triptofano e da associação de ambos no teste da chapa quente. **MATERIAIS E MÉTODOS:** 55 camundongos BALB, divididos em 4 grupos, receberam I.P. SF 0,9% 1ml/kg, L-Triptofano 400mg/kg, Fluoxetina 15mg/kg, e a associação de L-Triptofano 400mg/kg e Fluoxetina 15mg/kg respectivamente. Foram submetidos ao teste da Chapa Quente antes da administração e após 15, 30 e 60 minutos. **RESULTADOS:** O L-triptofano apresentou capacidade analgésica significativa em relação ao controle no tempo 30 minutos (F(3,51) = 7,14 e p < 0,001; 13,05 ± 2,28; 7,10 ± 0,82). Os grupos que receberam as soluções de Fluoxetina isoladamente e de Fluoxetina associada a L-triptofano apresentaram uma latência significativamente superior ao controle nos tempos 15 (F(3,51) = 7,29 p < 0,001; 16,83 ± 2,18; 21,13 ± 2,72; 9,83 ± 1,25) e 30 minutos (F(3,51) = 7,14 e p < 0,001; 18,05 ± 2,45; 19,53 ± 2,43; 7,10 ± 0,82). No tempo 60 minutos, apenas a Fluoxetina apresentou-se superior ao controle (F(3,51) = 2,26 e p < 0,05; 23,37 ± 2,42 e 14,62 ± 2,46). Fica evidente a participação da Serotonina na analgesia. Todavia, enquanto o mecanismo de ação do L-triptofano permanece incerto, a analgesia induzida pela Fluoxetina compreende tanto a modulação das vias nociceptivas quanto a alteração da sensação dolorosa subjetiva.

04.014

IMPORTÂNCIA DOS MASTÓCITOS NA NOCICEPÇÃO, HIPERALGESIA E EDEMA CAUSADOS ENDOTELINA-1 EM CAMUNDONGOS. *Frighetto, M.; **Piovezan, A.P.; De ³Souza, G.E.P.; ²Henriques, M.G.M.O., ⁴D'Orléans-Juste, P. e Rae, G.A. Departamentos de Farmacologia, CCB, ¹UFSC, Florianópolis; ²FarManguinhos-Fiocruz, Rio de Janeiro; ³Fac. de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP; ⁴Fac. of Medicine, University of Sherbrooke, Canada.

Objetivos: A endotelina-1 (ET-1) causa nocicepção, hiperalgisia (à capsaicina) e edema na pata traseira de camundongos (Piovezan et al., Br. J. Pharmac., 129: 961-968, 2000). Este estudo verificou o possível envolvimento de mastócitos na mediação destes efeitos da ET-1.

Métodos e Resultados: Camundongos machos foram tratados, em um primeiro momento, com Composto 48/80 (C4880; 1 + 3 + 10 + 10 µg/pata, por 4 dias) ou salina para verificar a influência sobre os efeitos da ET-1 (10 pmol). Após injeção intraplantar (i.pl.) de ET-1 (ou PBS) na pata traseira direita, cronometrou-se o tempo despendido lambendo (licking) a pata em períodos de 5 min, por 30 min. Após este período, avaliou-se a ocorrência de hiperalgisia à capsaicina (0,1 µg, i.pl.) nos 5 min seguintes. Cada animal foi então sacrificado, cortou-se ambas as patas na altura do tornozelo e avaliou-se o edema pela diferença de peso entre elas. Os dados foram analisados por ANOVA seguido de Bonferroni. A dessensibilização por C4880 bloqueou por completo os 3 efeitos da ET-1. Em seguida, verificou-se que bloqueio dos receptores ET_A, com BQ-123 (1 e 3 nmol, i.pl.), reduziu a hiperalgisia, mas não a nocicepção ou edema causados por C4880 (0,3 µg, i.pl.). O bloqueio de receptores ET_B, com BQ-788, foi inefetivo.

Conclusão: Mastócitos parecem ser fundamentais na indução da nocicepção, hiperalgisia e edema causados por ET-1. Além disso, a hiperalgisia causada por degranulação de mastócitos depende em parte de ETs. Apoio Financeiro: CNPq, FAPESP.

04.015

ENDOTELINA-1 POTENCIA RESPOSTA NOCICEPTIVA À FORMALINA EM RATOS. Motta, E.M.; *De Souza, G.E.P.; **D'Orléans-Juste, P.; Rae, G.A. Deptos. de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, *FCFRP, USP, Ribeirão Preto, Brasil, **Fac. Med., University of Sherbrooke, Canada.

Introdução: A endotelina-1 (ET-1) causa nocicepção, hiperalgisia à capsaicina e edema em camundongos e causa hiperalgisia mecânica em ratos. Este estudo avalia os efeitos da ET-1 na dor causada por formalina em ratos.

Métodos e Resultados: Ratos Wistar (ca. 200 g) receberam injeção intraplantar (i.pl.) de ET-1 (1, 3 e 10 pmol; em 20 µl; agonista de receptores ETA e ETB), sarafotoxina S6c (SRTX; 3, 10 e 30 pmol; agonista seletivo de receptores ETB) ou PBS e registrou-se a ocorrência de respostas nociceptivas (lambidas, "flinches" e favorecimento) por 1 h. Os animais receberam então formalina 0.5% (i.pl., ipsilateral. 50 µl) e foram observados por mais 1 h para registro de ambas as fases da dor causada por este agente. A ET-1 causou nocicepção espontânea dependente da dose (PBS 19 +/- 2 eventos; ET-1 1, 3 e 10 pmol 38 +/- 6, 42 +/- 3 e 51 +/- 2, respectivamente), e potencializou a primeira (0-5 min) e segunda (15-60 min) fases da dor causada por formalina (+107 e +170% com ET-1 10 pmol, respectivamente). A SRTX S6c também induziu dor espontânea nas doses de 3 e 10 (mas não 30) pmol. As 3 doses de SRTX também potencializaram igualmente apenas a primeira fase da dor por formalina, mas a maior dose (30 pmol) inibiu a segunda fase em 46%.

Conclusão: Além de causar dor, a ET-1 também induz hiperalgisia à formalina no rato. Pelo menos parte destes efeitos envolve a ativação de receptores ETB, mas receptores ETA medeiam o aumento da segunda fase (inflamatória) da dor por formalina.

Suporte Financeiro: CNPq, CAPES, FAPESP e CIHR.

04.016

INFLUENCE OF ENDOTHELIN RECEPTOR ANTAGONISTS ON ARTICULAR PAIN CAUSED BY CARRAGEENAN AND LPS IN RAT KNEE JOINT.

Josélia B. Daher^{1,2}, Glória P. De-Souza³, Pedro D'Orléans-Juste⁴ and Giles A. Rae¹. Depts of Pharmacology, 1CCB, UFSC, Florianópolis; 2SEBISA, UEPG, Ponta Grossa; 3FCFRP-USP, Ribeirão Preto; Brazil; 4Fac. Medicine, University of Sherbrooke, Canada.

Introduction: ETB receptor agonists inhibit pain induced by intraarticular (i.a.) CG and limit its priming effect on pain evoked by subsequent challenges of CG, but not LPS. Here we assess if endothelins (ETs), acting via ETA and ETB receptors, affect CG- and LPS-induced articular incapsulation or the priming effect of CG towards both stimuli. Methods and Results: Knee joint nociception was assessed in male Wistar rats as increases in time its treated paw did not touch the surface of a revolving cylinder during 1 min per h (paw elevation time, PET). BQ-123 (ETA receptor antagonist; 10 or 30 nmol, i.a. 15 min before) and BQ-788 (ETB receptor antagonist; 10 or 30 nmol) did not alter pain induced by CG (300 µg) or LPS (E. coli, 1 µg) in the naïve joint up to 6 h. CG-priming amplified PET increases caused by a second challenge (72 h later) of CG or LPS. BQ-123 (30 nmol, before CG-priming) reduced subsequent LPS-induced pain [AUC of 0 to 8 h PET curve reduced from 288 ± 9 to 228 ± 18 arbitrary units], but not CG. BQ-788 (10 pmol, before CG-priming) augmented pain caused by CG (from 217 ± 9 to 302 ± 26) and LPS (287 ± 9 to 334 ± 13) in primed joints. Conclusions: Endogenous ETs play a dual role in articular pain, enhancing CG-priming towards LPS-induced pain via ETA receptors, but attenuating CG-priming towards both CG and LPS via ETB receptors. Financial Support: CAPES, CNPq, FAPESP, PRONEX and CIHR -Canada.

04.017

ALTERAÇÃO DO PERFIL DE AÇÃO DA SARAFOTOXINA 56c APÓS RE-EXPOSIÇÃO AO ANTÍGENO EM UM MODELO DE DOR IMUNE.

1,2Anna P. Piovezan, 3Maria G.M.O. Henriques, 4Glória E.P. De-Souza, 5Pedro D'Orléans-Juste, 1Giles A. Rae. Depts. de 1Farmacologia, UFSC, Florianópolis, 2GRUPNAT-UNISUL, Tubarão, 3Farmanguinhos-FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 4FCFRP, USP, Ribeirão Preto, 5Fac. Med., University of Sherbrooke, Canadá.

Introdução: As endotelinas participam do desenvolvimento de nocicepção de origem imune em camundongos sensibilizados à ovoalbumina (OVA), por ativação de receptores ETA, mas o papel de mecanismos regulados por receptores ETB não está estabelecido. Este estudo investigou a influência da re-exposição à OVA na resposta nociceptiva a um agonista de receptores ETB, a sarafotoxina 56c (SRTX). Métodos e Resultados: Camundongos suíços machos (ca. 20 g) receberam injeção subcutânea (s.c.) de solução contendo 50 µg de OVA + 5 mg de Al(OH)₃ (animais sensibilizados, SS) ou de veículo (animais

não-sensibilizados, NS). Após 14 dias, animais SS ou NS receberam injeção i.pl. de OVA (0,3 µg/pata) e foram observados para o aparecimento de resposta nociceptiva (tempo despendido lambendo a pata tratada) por 30 min. Decorrido este tempo, os animais receberam nova injeção i.pl., ipsilateral, de SRTX (10 ou 30 pmol) ou veículo (PBS) e observou-se os mesmos para a ocorrência de nocicepção por mais 30 min (total 1 h). Animais SS re-expostos à OVA apresentaram respostas nociceptivas significativas à SRTX e dependentes de dose (10 pmol: 43 ± 13; 30 pmol: 57 ± 12, 200% aumento) quando comparado ao grupo SS que recebeu veículo aos 30 min (controle: 19 ± 4, n=6). Discussão: Em camundongos SS, a re-exposição à OVA parece alterar a resposta à ativação de receptores ETB, de um perfil anti-hiperalgésico para nociceptivo e/ou hiperalgésico. Apoio Financeiro: CNPq, FAPESP, PRONEX e CIHR.

04.018

EVIDÊNCIAS SOBRE A PARTICIPAÇÃO DAS CININAS, TAQUICININAS E GLUTAMATO NA NOCICEPÇÃO INDUZIDA PELO ESTER DE FORBOL EM CAMUNDONGOS.

Ferreira J, Triches KM, Bortolanza LB, Calixto JB. Depto. de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC.

Objetivos: A proteína quinase C (PKC) está envolvida com o desenvolvimento e a manutenção dos processos nociceptivos agudos e crônicos. O objetivo do presente estudo foi investigar os mecanismos envolvidos na nocicepção induzida pelo ativador da PKC, o forbol miristato acetato (PMA) em camundongos. Métodos e resultados: Foram usados camundongos Suíços (20-30 g, N=6). A injeção intraplantar (i.pl.) de PMA (0,01-1 µg/pata), mas não do seu análogo inativo o 4alfa-PMA, causou nocicepção (medida pelo tempo de lambida da pata) com pico de efeito de 15 a 45 minutos após a injeção. A co-administração (i.pl.) dos inibidores seletivos da PKC, o GF109203X (1 nmol), NO-sintase (L-NOARG 10 µmol) ou dos antagonistas de receptores NMDA (MK801 1 nmol), NK1 (FK888 150 pmol), B2 (Hoe140 3 nmol) ou B1 (DALBK 300 pmol), reduziram a nocicepção induzida pelo PMA (30 ng/pata) com inibições de 100, 63±8, 27±13, 57±11, 36±11 e 99±1%, respectivamente. O tratamento de animais neonatos com capsaicina (50 mg/kg s.c.) ou a simpatectomia causada pela guanetidina (30 mg/kg i.p.), reduziram em 83±3 e 73±7% a resposta nociceptiva do PMA. O tratamento com morfina (5 mg/kg s.c.), indometacina (10 mg/kg i.p.) ou lidocaína (30 mg/kg i.p.), mas não com dexametasona (5 mg/kg s.c.) ou refecoxib (30 mg/kg i.p.), reduziu a nocicepção induzida pelo PMA, com inibições de 100, 52±10 e 66±10%, respectivamente. Conclusão: A nocicepção causada pelo PMA depende da integridade de fibras C e simpáticas e da ativação de receptores para cininas, glutamato e taquicinas. Sendo estes sítios importantes na gênese da dor crônica, inibidores seletivos da PKC poderiam constituir em alvo interessante para o desenvolvimento de novos analgésicos. Apoio Financeiro: CNPq, CAPES, FINEP e PRONEX.

04.019

VASOACTIVE AMINE AND BRADYKININ SYNERGISM IS IMPLICATED IN THERMAL HYPERALGESIA IN RAT PAW SUBJECTED TO IGE-MEDIATED INFLAMMATION.

Lavich, T.; Cord-eiro, R.; Calixto, J.¹; Silva, P.; Martins, M. ¹Depto Farmacologia, UFSC; DFF, IOC, FIOCRUZ, RJ.

An acute allergic reactions result from the immediate release of pro-inflammatory substances and the phenomenon is frequently associated with both tissue damage and nerve injury. The ability of allergen to induce hyperalgesia in IgE sensitized rats was investigated. The left hind paw of Wistar rats was sensitized with an intraplantar injection of anti-DNP IgE mAb and challenged with DNP-BSA 24 later. Paw withdrawal latency to a heat surface (52°C) was measured to assess the nociceptive threshold, whereas oedema response was analyzed in pletismography. Allergen challenge yielded a rapid and intense thermal hyperalgesia and oedema formation in the ipsilateral paw, both reaching a plateau from 15 min to 3 h reducing thereafter, whereas the contralateral paw remained unchanged. Allergen-evoked hyperalgesia was inhibited by the treatment i.p with meclizine or methysergide, histamine and 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor antagonists respectively. It was also sensitive to the local treatment with either B₁ or B₂ receptor antagonists, des-Arg⁹-Leu⁸-BK or Hoe 140 respectively. Anaphylactic hyperalgesia was mimicked by the combined administration of histamine, 5-HT and bradykinin (BK) at doses, which were ineffective as injected alone. This synergistic effect was abolished by treatment with meclizine, methysergide or Hoe 140. Our findings show that local thermal hyperalgesia is a feature of allergen-evoked inflammation, and that synergism between BK, 5-HT and histamine play a critical role in this phenomenon. Support: CAPES, CNPq, FAPERJ.

04.020

PARTICIPAÇÃO DO RECEPTOR VANILÓIDE NA NOCICEPÇÃO CAUSADA PELA INJEÇÃO INTRAPLANTAR DE BRADICININA EM CAMUNDONGOS.

Silva, G.L., Ferreira, J., Calixto, J. B. Depto de Farmacologia, UFSC. Florianópolis – SC.

Objetivo: O objetivo do presente estudo foi avaliar a participação dos receptores vanilóides (VR1) na nocicepção causada pela injeção intraplantar (i.pl.) de Bradicininina (BK) em camundongos. Métodos e Resultados: Utilizou-se camundongos suíços machos. A injeção i.pl. de BK ou de Tyr⁸-BK (agonista B₂ 1-60 nmol/pata) produziu nocicepção dose-dependente (avaliado o tempo de reação 10 minutos após a injeção), com DE₅₀ = 5.7 (4.8 – 6.8) nmol/pata e 7.0 (5.8 – 8.3) nmol/pata, respectivamente. O antagonista B₂ Hoe140 inibiu a nocicepção causada pela BK (DI₅₀ e a inibição máxima de 2.1 (2.0-2.2) nmol/pata e 88±13%, respectivamente), mas não o antagonista B₁, des-Arg⁹[Leu⁸]-BK (10 nmol/pata). Da mesma forma o GF109203 e a quinacrina (inibidores da PKC e da fosfolipase A₂, 1 nmol/pata) inibiram em 14 ± 2.5 e 8 ± 2.4% a nocicepção

da BK. A injeção i.pl. de CAP (0.03-5.2 nmol/pata) também induziu nocicepção dose dependente com $DE_{50} = 0.6(0.3 - 1.1)$ nmol/pata. A nocicepção causada tanto pela CAP (1 nmol) como pela BK (10 nmol) foi abolida pelo antagonista seletivo dos VR1, capsazepina (CPZ, 1-30 nmol/pata). A destruição de fibras C causada pelo tratamento neonatal com CAP (50 mg/kg, s.c.) inibiu tanto a resposta nociceptiva à BK (87±6%) como da CAP (100%). Doses que não causam nocicepção *per se* de BK (0.3nmol/pata) e de CAP (0.03nmol/pata) quando co-administradas produzem significativo efeito nociceptivo. Conclusão: Os resultados indicam que a nocicepção da BK é mediada pelo VR1, via ativação da PKC e produção de derivados do ácido araquidônico. Financiadores: CNPq, PRONEX e FINEP.

04.021

AValiação de diferentes drogas usadas na clínica na dor neuropática induzida pela avulsão do plexo braquial de ratos. Rodrigues Filho, R.**; Santos, A.R.S.; Bertelli, J.A. E Calixto, J.B. - Departamento de Farmacologia, UFSC - Florianópolis, SC. Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL).

Introdução e Objetivos: As dificuldades para o tratamento da dor neuropática resultam em grande parte da falta de entendimento dos mecanismos envolvidos na gênese e manutenção desta patologia e da relativa ausência de tratamentos clínicos efetivos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito anti-hiperalgésico de drogas usadas na clínica na dor neuropática induzida pela avulsão do plexo braquial de ratos. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar (2 meses) nos quais foi realizada a avulsão do plexo braquial direito sendo as respostas medidas nas patas traseiras entre 20 e 40 dias após a cirurgia, em diferentes testes comportamentais. Foram registradas as medidas basais, após administração de salina ou das seguintes drogas: morfina 5 mg/Kg (s.c.), clonidina 300 µg (i.p.), dipirona 180 mg/kg (i.p.), celecoxib 10 mg/Kg (i.p.) e cetamina 12 mg/Kg (i.p.) 30 ou 60 min antes do teste. **Resultados:** Os resultados obtidos demonstraram que somente a morfina [$F(17,126) = 116,56; p < 0,001$], e a clonidina [$F(17,126) = 98,967; p < 0,05$], causaram redução significativa da hiperalgesia térmica (frio) quando os animais foram submetidos ao teste da acetona. Já no teste do Randall-Selitto, a morfina, a clonidina e o celecoxib reverteram significativamente a hiperalgesia mecânica induzida pela avulsão do plexo braquial ([$F(17,126) = 55,156; p < 0,0001$]; [$F(17,126) = 17,010; p < 0,001$]; [$F(17,126) = 14,512; p < 0,05$], respectivamente). **Conclusões:** Estes resultados mostram que as drogas utilizadas clinicamente no tratamento das neuropatias foram capazes de reduzir o quadro de dor neuropática induzida pela avulsão do plexo braquial em ratos, demonstrando que esse modelo é útil para o estudo de novas drogas para o tratamento da dor neuropática de longa duração. Apoio Financeiro: CNPq, FINEP e PRONEX.

04.021a

LESÃO POR AVULSÃO DO PLEXO BRAQUIAL DE RATO. UM NOVO MODELO PARA O ESTUDO DA DOR NEUROPÁTICA DE LONGA DURAÇÃO. Rodrigues Filho, R.**; Santos, A.R.S.; Bertelli, J.A. and Calixto, J.B. Departamento de Farmacologia, UFSC - Florianópolis, SC. Universidade do Sul de Santa Catarina, UNISUL.

Introdução e Objetivos: Como consequência da avulsão do plexo braquial em humanos surge um quadro de dor neuropática caracterizada por uma sensação em queimação contínua, dor em pontada ou mesmo choque que é freqüentemente intratável e cujos mecanismos fisiopatológicos envolvidos são pouco entendidos. Pode iniciar imediatamente após o trauma ou ainda nas primeiras 12 semanas, podendo ocorrer distante do local da lesão, ipsilateral ou contralateral. O objetivo deste trabalho foi estudar se a avulsão do plexo braquial de rato pode se constituir em um novo modelo para o estudo da dor neuropática de longa duração. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar machos (2 meses) nos quais foram realizadas diferentes lesões (avulsão, sutura e constrição) do plexo braquial direito sendo as respostas medidas principalmente nas patas traseiras em diferentes testes comportamentais, 5, 20, 30 e 90 dias após. A hiperalgesia foi avaliada através do aparelho de Randall-Selitto, Hargreaves ou Paw-flick. **Resultados:** As lesões do tipo sutura, constrição e avulsão não induziram hiperalgesia térmica (calor) nem tampouco prejuízo locomotor quando analisados no teste de Hargreaves [$F(7,72) = 1,68; p < 0,12$], Paw-flick [$F(9,70) = 8,11; p < 0,07$], e Open field [$F(4,35) = 2,64; p < 0,09$], respectivamente. Entretanto, a lesão do tipo avulsão induziu hiperalgesia mecânica significante e sustentada nas patas posteriores, durante todo o período de avaliação [$F(9,70) = 36,10; p < 0,001$], não ocorrendo o mesmo no caso da sutura ou da constrição, onde os animais aos 90 dias não apresentavam mais comportamento sugestivo de hiperalgesia. **Conclusão:** Estes resultados mostram que a avulsão do plexo braquial de rato pode se constituir em um novo modelo de nocicepção, importante para o estudo da fisiopatologia e desenvolvimento de novas terapêuticas para o tratamento da dor neuropática de longa duração, tendo em vista que os animais apresentaram um quadro de dor neuropática semelhante ao descrito em humanos. Apoio Financeiro: CNPq, FINEP e PRONEX.

04.022

ESTUDO DA ATIVIDADE DE NOVOS CANDIDATOS A PROTÓTIPOS DE FÁRMACOS ANALGÉSICOS, DESENHADOS COMO AGONISTAS CANABINÓIDES. Marina V. Martins¹ (IC), Magna S. Alexandre-Moreira¹ (PQ)*, Valter L. C. Gonçalves¹ (IC), Lídia M. Lima¹ (PQ), & Ana L. P. Miranda¹ (PQ), Carlos A M. Fraga¹ (PQ) & Eliezer J. Barreiro¹ (PQ) ¹LASSBio-Dept^o de FÁrmacos-Faculdade de Farmácia-UFRJ-RJ.¹

Introdução: As ações farmacológicas da anandamida são semelhantes àquelas observadas para o Δ^9 -THC, principal constituinte químico da *Cannabis sativa*^{1,2}. Entretanto, a despeito da potência analgésica da anandamida sua aplicação terapêutica é inviável face ao curto tempo de meia vida em função da metabolização. **Objetivos:** Deste modo, o desenho de análogos da anandamida com melhor perfil farmacocinético configura-se como atraente estratégia para a obtenção de novos candidatos a fármacos analgésicos de ação central, não narcóticos. **Métodos e Resultados:** A atividade analgésica dos novos derivados amídicos foi avaliada em modelo de nocicepção periférica³ (contorções abdominais induzidas por AcOH) e central⁴, (hot-plate) em camundongos. Os resultados evidenciaram atividade antinociceptiva periférica e central. Tabela 1

Substância	% de inibição das contorções abdominais induzidas por AcOH	% do aumento do tempo de latência no ensaio de "hot plate"
LASSBio 778	65,6*	74'
LASSBio 779	39*	80,5*
LASSBio 793	52,5*	74,2*
LASSBio 794	39*	59,7*
LASSBio 796	46,9*	107*
LASSBio 797	56,36*	54,6*
LASSBio 798	60,9*	68,3*
LASSBio 818	60*	130,7*
LASSBio 819	38,4*	60'

Conclusões: Os estudos realizados com análogos da anandamida sugerem uma possível ação sobre receptores canabinóides.

Apoio financeiro: FAPERJ; CNPq.

¹Pertwee, Progress in Neurobiology 2001, 63, 569.

²Morisset, et. al. Eur. J. Pharmacol. 2001, 429, 93.

³Kuraishi et al. Brain Research, 1983. 273, 245.

⁴Coller et al. Brit. J. Pharmac. and Chemoth., 1968 32, 295.

04.023

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DA VIGABATRINA (SABRIL) EM CAMUNDONGOS. Soethe, D.N.*, Calegari, V.M., Santos, A.R.S. Curso de Farmácia, CCBS, Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Tubarão-SC.

Objetivos: A vigabatrina (Sabril), inibidor da enzima ácido gama-aminobutírico (GABA)-transaminase, é um anticonvulsivante eficaz em uma variedade de modelos experimentais de epilepsia. O presente estudo tem como objetivo analisar a possível atividade antinociceptiva da vigabatrina na nocicepção induzida pela injeção de ácido acético e formalina em camundongos. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados camundongos fêmeas (25-35 g, N = 8-12 por grupo). A vigabatrina administrada por via oral (300 mg/kg), causou inibição tempo dependente das contorções abdominais induzida pela injeção intraperitoneal de ácido acético (0,6%), sendo seu efeito antinociceptivo de longa duração (até 12 horas) com resposta máxima de 84 ± 4% 6 horas após sua administração. Além disso, a vigabatrina

na (10 - 500 mg/kg, v.o. 6 horas antes) também causou redução, de forma dose dependente, das contorções abdominais induzida pelo ácido acético (0,6%), com DI50 de 125,2 (57,7-271,6) mg/kg e inibição de 70±9%. A vigabatrina (10 - 300 mg/kg, v.o. 6 horas antes) foi capaz de reduzir, de forma dose dependente, o tempo de lambida e/ou mordida observado tanto na primeira (dor neurogênica) quanto na segunda (dor inflamatória) fase da dor induzida pela injeção intraplantar de formalina (2,5%), com DI50 de 47,1 (28,2-78,7) e 25,9 (14,0-48,1) mg/kg e inibição de 74±6 e 98±1% para a primeira e segunda fase, respectivamente. Conclusão: Esses resultados estendem os dados da literatura e demonstram que a vigabatrina possui significativo e duradouro efeito antinociceptivo tanto na dor de origem neurogênica quanto inflamatória induzida pela formalina e pelo ácido acético em camundongos. Estudos estão em andamento visando determinar seus mecanismos de ação antinociceptiva. Apoio Financeiro: UNISUL e CNPq.

04.024

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DO AMITRAZ MEDIDO PELO TESTE DA FORMALINA EM CAMUNDONGOS. ¹Bellard, T.M.R., ²Santana, G.C., ¹Tatsuo, M.A.K.F. & ¹Turchetti-Maia, R.M.M. ¹Departamento de Farmacologia, ICB-UFMG-BH-MG, ²Departamento de Medicina Veterinária, UFLA-Lavras-MG.

Introdução: O Amitraz é um acaricida de uso veterinário com atividade agonista α_2 -adrenérgico. O objetivo do trabalho foi avaliar se o Amitraz induz antinocicepção periférica no teste de formalina e qual o receptor envolvido nesta resposta.

Métodos: Camundongos Swiss machos (25-40g) receberam via intraplantar (ipl) 20 μ L de formalina 2,5% (form.). A taxa nociceptiva (TN) foi medida como o tempo em segundos gasto pelo animal lambendo a pata injetada com form.. Consideramos como fase 1, os 5 primeiros min. e como fase 2, o período de 15 a 30 min. pós-form.. O efeito local foi avaliado injetando Amitraz (15 min) e/ou Idazoxan, antagonista α_2 -adrenérgico, (20min) ipl e ipsilateralmente (ipsil) pré-form.. Os animais foram divididos em grupos (n=5): 1) Arol 3700 a 0,8% (solvente), 2) Amitraz ipsil, 3) Amitraz injetado contralateralmente a form. para avaliação do efeito sistêmico, 4) Idazoxan 74 μ g, 5) Amitraz + Idazoxan. Os dados foram submetidos a ANOVA/teste Bonferroni (software Sigma Stat).

Resultados e Discussão: 64 μ g de Amitraz inibiu a TN da fase 1 somente quando administrado ipsil, evidenciando um efeito local do composto e 128 μ g inibiu a TN nas duas fases, quando administrado ipsi e contralateralmente, sugerindo efeito sistêmico. A antinocicepção induzida pelo Amitraz foi inibida nos animais pré-tratados com Idazoxan. O Idazoxan, *per se*, na dose utilizada, não alterou a TN. Concluímos que o Amitraz induz antinocicepção por ação local e/ou sistêmica via receptores α_2 -adrenérgicos.

Apoio: PROGRAD-UFMG, FAPEMIG

04.026

ANÁLISE DO MECANISMO DE AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DA ADENOSINA EM CAMUNDONGOS. Pereira, M.A.S.1*, Souza, M.M.1, Calixto, J.B.2, Santos, A.R.S.3 Universidade do Vale do Itajaí, CCS, Itajaí-SC. 2Depto de Farmacologia, UFSC, Florianópolis-SC. 3Curso de Farmácia, UNISUL, Tubarão-SC.

Objetivos: Recentemente demonstrou-se que a adenosina apresenta significativo efeito antinociceptivo e antihiperálgico em ratos e camundongos. O presente estudo tem como objetivos analisar o possível mecanismo de ação antinociceptiva da adenosina na dor induzida pela injeção intraplantar de formalina (F) em camundongos. Métodos e Resultados: Foram utilizados camundongos Suíços machos (25 a 35 g, N=6-10 por grupo). A AD (10-300 mg/kg, i.p. 0,5 h antes) reduziu, de forma dose-dependente, o tempo de lambida e/ou mordida (TLM) observado tanto na primeira (dor neurogênica) quanto na segunda (dor inflamatória) fase da dor induzida pela F (2,5%), com DI50 de 63,1 (53,1-75,0) e 48,8 (42,1-56,6) mg/kg e inibição de 92±3 e 100%, respectivamente. O efeito antinociceptivo da AD (100 mg/kg, i.p.) foi revertido de forma significativa pelo pré-tratamento dos animais com L-arginina (600 mg/kg, i.p. precursora do óxido nítrico), haloperidol (0,2 mg/kg, i.p. antagonista dopaminérgico não seletivo), ioimbina (0,15 mg/kg, i.p. antagonista alfa2-adrenérgico), cafeína (3 mg/kg, i.p. antagonista não seletivo de adenosina) e pelo DPCPX (5 mg/kg, i.p. antagonista seletivo do receptor A1 de adenosina), mas não pela naloxona (1 mg/kg, i.p. antagonista opióide não seletivo), quando analisado na dor causada pela F. Conclusão: Os resultados obtidos neste trabalho confirmam os dados da literatura e demonstram que a adenosina apresenta significativo efeito antinociceptivo tanto na dor neurogênica quanto inflamatória causada pela F. O mecanismo de ação antinociceptiva da adenosina parece envolver a ativação dos sistemas adrenérgico, dopaminérgico e nitrérgico, mas não o sistema opióide, via ativação do receptor A1 da adenosina. Apoio Financeiro: UNIVALI, UNISUL, CNPq.

04.027

EFEITO ANTINOCICEPTIVO DA DIACEREÍNA EM MODELOS DE DOR CRÔNICA EM CAMUNDONGOS. ¹Quintão, NLM*, ¹Ferreira, J., ²Santos, ARS; ¹Calixto, JB. ¹Departamento de Farmacologia, UFSC, Florianópolis-SC; ²Curso de Farmácia, UNISUL, Tubarão-SC.

Introdução: Recentemente demonstrou-se que a diacereína (DCA, Artrodar) utilizada clinicamente no tratamento da osteoartrose, causou significativo efeito antinociceptivo e antihiperálgico em ratos e camundongos. O presente estudo analisa o efeito da DCA na alodínia induzida pelo adjuvante completo de Freud (CFA) e pela constrição parcial do nervo ciático (CPNC). Além disso, foram também avaliados as ações da DCA sobre os níveis de interleucina-1 β (IL-1 β) e na infiltração neutrofilica, avaliada de forma indire-

ta através da atividade da mieloperoxidase (MPO) causada pelo CFA, em camundongos. Material e métodos: Foram utilizados camundongos Suíços de ambos os sexos (20-35g, N=5-7). A alodínia mecânica induzida pelo CFA e pela CPNC foi avaliada através da aplicação do filamento de Von Frey 0,6 g. A DCA administrada pela via oral (50 mg/kg, 1 hora antes) reduziu de forma significativa a alodínia induzida pela injeção intraplantar de CFA (20 μ L/pata) com inibição de 54±4%. Este efeito prolongou-se por 16 horas. A DCA (50 mg/kg, v.o.) também foi capaz de reduzir os níveis da MPO e da IL-1 β na pata dos animais administrados com CFA, com inibição de 98±1% e 43±4%, respectivamente. Além disso, a DCA (50 mg/kg, v.o.) também reduziu a alodínia mecânica causada pela CPNC com inibição de 79±5%. Conclusão: Esses resultados estendem os dados anteriores e mostram que a DCA também foi efetiva na alodínia mecânica presente na dor crônica de origem inflamatória (CFA) ou neuropática (CPNC). O mecanismo da ação antinociceptiva da DCA parece depender, pelo menos em parte, da redução da infiltração de neutrófilos e da inibição do níveis de IL-1 β . Apoio Financeiro: CNPq, FINEP, PRONEX e trbPharma.

04.029

EFEITO DA PENTOXIFILINA (PTX) NA HIPERALGESIA MECÂNICA (HM) EM PATA DE RATO INDUZIDA POR DIVERSOS ESTÍMULOS. ¹Vale ML, ²Sachs D, ¹Benevides VM, ²Ferreira SH, ¹Ribeiro RA e ²Cunha FQ. 1. Depto de Fisiologia e Farmacologia, FM-UFC. 2. Depto de Farmacologia FMRP-USP.

Introdução e objetivos: Há evidências de que a PTX, uma metilxantina inibidora de fosfodiesterase usada no tratamento de doenças vasculares, tem ação terapêutica na redução do processo inflamatório por inibir a produção de citocinas hiperálgicas: TNF α , IL-1, IL-6, IL-8 por diversos tipos celulares. No modelo de HM foi demonstrado que a carragenina (Cg) induz a liberação em cascata de citocinas (IL-1, IL-6, IL-8) que tem o TNF α como mediador central e bradicinina (Bk) como iniciadora, resultando na sensibilização de nociceptores por duas vias distintas: a eicosanóide e a simpática. Portanto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da PTX na HM induzida por diversos estímulos.

Métodos e resultados: O pré-tratamento com PTX (0,1-45 mg/kg), foi capaz de inibir, a HNM induzida por Cg (76%; p<0.001). A administração intraplantar de PTX também inibiu a HM induzida por LPS (1 μ g/pata; 37%; p<0.01), Bk (500 ng/pata; 34%; p<0.05) e TNF α (2,5 pg/pata; 45%; p<0.01) mas não a por IL-1 β (1 pg/pata) ou prostaglandina E₂ (PGE₂; 100 ng/pata). Em adição, PTX não inibiu a HM quando dada 2h após o estímulo.

Conclusões: A PTX tem efeito antinociceptivo na HM, que parece dever-se a inibição da produção de TNF- α e IL-1 β , visto que diminuiu a HM por estímulos que antecedem a liberação do TNF α (Cg, LPS, Bk) ou IL-1(Cg, LPS, Bk e TNF α) mas não a do mediador final PGE₂ ou IL-1 β . O pré-tratamento com PTX não tem efeito sobre os estímulos, reforçando a ideia de que ela age impedindo a liberação de mediadores e não sobre eles.

04.030

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA PROFILÁTICA E TERAPEUTICA DO ACETAMINOFENO, L-WNITRO-L-ARGININA E DA LIDOCAINA EM CAMUNDONGOS. Florenço, E.B.1, Quintão, N.L.M.2, Ferreira, J.2, Calixto, J.B.2, Santos, A.R.S.1 Departamento de 2Farmacologia, UFSC, Florianópolis-SC. 1Curso de Farmácia, CCBS, Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Tubarão-SC.

Objetivos: Trabalhos da literatura demonstram que o pré-tratamento de animais com analgésicos produz efeito antinociceptivo profilático em modelos experimentais. Porém, a intervenção terapêutica da dor clínica é geralmente realizada após a instalação do processo patológico. Diante do exposto, o presente estudo procura verificar o possível efeito terapêutico de substâncias analgésicas, administradas após a primeira fase da nocicepção causada pela formalina. Métodos e Resultados: A nocicepção foi induzida pela injeção intraplantar de formalina (F, 2,5%) em camundongos machos (30-40 g, N=6-10 por grupo). O efeito profilático (administração via i.p. 10 min antes da F) do acetaminofeno (ACT, 100 mg/kg) ou da indometacina (IND, 10 mg/kg, inibidores não seletivo da COX), da L-wnitro-L-arginina (L-NOARG, 100 mg/kg, inibidor da NO-sintase) e da lidocaína (LID, 30 mg/kg, anestésico local) foi comparado com o possível efeito terapêutico (administração 5 min após a F). O ACT, a IND, a L-NOARG e a LID, administrada 10 min antes da F, causaram redução significativa da dor inflamatória (segunda fase) induzida pela F, com inibição de 52±5, 53±6 e 93±3%, respectivamente. No entanto, a LID reduziu tanto a primeira (67±7%) quanto a segunda (81±4%) fase da dor causada pela F. O efeito antinociceptivo terapêutico do ACT (54±7%) e a LID (91±9) não foi alterado, enquanto que o efeito da L-NOARG (62±11%) foi reduzido de maneira significativa e o da IND (8±6%) foi abolido, quando analisado na segunda fase da dor da F. Conclusão: Esses resultados estendem os dados da literatura e demonstram que o ACT, a LID e a L-NOARG possui significativo efeito antinociceptivo tanto profilático quanto terapêutico quando analisado na nocicepção induzida pela F em camundongos. Apoio Financeiro: UNISUL e CNPq.

04.031

AGONISTA δ OPIÓIDE SNC 80 INDUZ ANTINOCICEPÇÃO PERIFÉRICA VIA CANAIS DE POTÁSSIO ATP-SENSÍVEIS. Pacheco, D.F.; Alves, D.P & Duarte, I.D.G., Departamento de Farmacologia, ICB-UFMG.

INTRODUÇÃO: A participação dos receptores δ opióides na antinocicepção periférica tem sido pouco estudada, assim este trabalho tem por objetivo verificar a possível participação de canais de potássio e subtipos envolvidos na antinocicepção induzida pelo agonista de receptor δ opióide SNC 80.

MÉTODOS: O limiar nociceptivo foi medido pelo método de compressão da pata de ratos (Wistar,

machos, 180-220 g, n=5). A hiperalgesia foi avaliada pela diferença (Δ) entre as medidas do limiar nociceptivo inicial (expresso em gramas), sem o agente hiperalgésico (PGE_2 , 2 μ g/pata), e aquela da terceira hora após sua administração. Todos os fármacos foram administrados por via intraplantar.

RESULTADOS: A PGE_2 induziu hiperalgesia que foi revertida de modo dose-dependente pelo SNC80 (20, 40 e 80 μ g). O efeito antinociceptivo do SNC80, considerado periférico na dose de 80 μ g foi revertido pela administração de bloqueadores específicos de canais de potássio ATP-sensíveis de maneira dose-dependente, Glibenclâmida (20,40 e 80 μ g) e Tolbutamida (40, 80 e 160 μ g). Os bloqueadores de canais de potássio ativados por cálcio, Dequalinium (50 μ g), Caribdotoxina (2 μ g); os voltagem-dependente, Tetraetilamônio (30 μ g), 4-Aminopiridina (10 μ g) e um bloqueador não específico, cério (500 μ g) não foram efetivos em reverter o efeito antinociceptivo periférico induzido pelo SNC 80.

CONCLUSÃO: Nossos resultados sugerem que os canais de potássio ATP-dependentes estão envolvidos na antinocicepção periférica induzida pelo agonista de receptor δ opióide SNC 80. A participação de outros tipos de canais de potássio foi descartada. Apoio: CNPq

04.032

TOXINA PERTUSSIS (Ptx) CAUSA ANTINOCICEPÇÃO VIA ATIVAÇÃO DE PROTEÍNOQUINASE C E ATIVAÇÃO DE CANAIS DE K^+ SENSÍVEIS AO ATP. ¹Sachs D., ²Brito G.A.C., ¹Schivo I.R.S., ¹ROSA S. R., ²Ribeiro R.A., ¹Cunha F.Q., ¹Ferreira S.H. ¹Depto de Farmacologia da F.M.R.P-USP, São Paulo, ²Depto de Farmacologia da UFC, Ceará.

Introdução: Resultados anteriores demonstraram que a Ptx inibe a hipersensibilidade nociceptiva mecânica induzida por prostaglandina E_2 (PGE_2). O objetivo desse trabalho é investigar o mecanismo pelo qual a Ptx induz antinocicepção e se este está associado à ativação de canais de K^+ sensíveis ao ATP.

Métodos e Resultados: A hipersensibilidade nociceptiva mecânica foi avaliada utilizando-se o teste de pressão na pata de ratos (Wistar, machos 120-300 g), o qual é uma adaptação do modelo Randall & Selitto. Observou-se que: 1) o pré-tratamento intraplantar (i.pl.) dos animais com glibenclâmida ou tolbutamida (bloqueadores de canais de K^+ sensíveis ao ATP; 80 μ g.pata⁻¹ e 240 μ g.pata⁻¹; i.pl., respectivamente) revertem (61.2% e 60.1%, respectivamente) o efeito antinociceptivo da Ptx (300 η g.pata⁻¹; i.pl.) sobre hipersensibilidade nociceptiva induzida por PGE_2 (100 ng.pata⁻¹; i.pl.), além disso, o pré-tratamento intraplantar de staurosporine (inibidor de proteínquinase C) reverte a antinocicepção da Ptx sobre a hipersensibilidade nociceptiva mecânica induzida pela PGE_2 (100 ng.pata⁻¹; i.pl.). Conclusões: Esses resultados sugerem que o efeito antinociceptivo da Ptx sobre a hipersensibilidade nociceptiva mecânica induzida por PGE_2 é resultante ativação de canais de K^+ sensíveis ao ATP via ativação de proteínquinase C. Apoio Financeiro: CNPq, FAEPA e FAPESP.

04.033

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES GLUTAMATÉRGICOS E DA PROTEÍNA QUINASE C NA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DA DIPIRONA EM CAMUNDONGOS. Siebel, J.S.; Beirith, A.; Calixto, J.B. Depto de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC

Objetivos: Apesar da dipirona (DIP) ser classificada como anti-inflamatório não esteroide e ser amplamente usada na clínica, seu mecanismo de ação ainda não está totalmente esclarecido. O objetivo deste trabalho é avaliar a atividade antinociceptiva da DIP sobre a nocicepção induzida por agonistas dos subtipos de receptores glutamatérgicos e pelo éster de forbol (PMA). Métodos e Resultados: Foram utilizados camundongos suíços machos (30-40 g) e os resultados estão expressos como a média \pm e.p.m. A DIP (30-720 mg/kg, i.p) foi administrada 30 min antes da injeção i.t. (5 μ l/sítio) de glutamato (175 nmol), NMDA (450 pmol), AMPA (135 pmol), kainato (110 pmol) ou *trans*-ACPD (25 nmol). O tempo que os animais permaneceram lambendo a região caudal (*biting*) foi avaliado nos intervalos de 3, 5, 1, 4 e 15 min, respectivamente. A DIP causou marcante efeito antinociceptivo em todos os modelos. As inibições máximas (I_{max}) foram: 79±5%, 44±11%, 38±12%, 31±8% e 68±8%, respectivamente. As DI_{50} (mg/kg) calculadas para DIP no *biting* induzido por glutamato e *trans*-ACPD foram 124,1 e 175,7, respectivamente. A DIP também causou inibição dose dependente da dor induzida por PMA (0,03 μ g/i.pl.). Foi avaliado o tempo que o animal permaneceu lambendo a pata traseira direita, 15 a 45 min após a injeção. A I_{max} foi 94±3% e a DI_{50} foi 91,1 mg/kg. Conclusões: Esses resultados indicam que a DIP inibe a nocicepção induzida pelos agonistas glutamatérgicos, sendo, contudo, mais ativa em relação ao agonista metabotrópico. Além disso, a DIP inibe marcadamente a nocicepção induzida pelo PMA, sugerindo que a inibição da PKC, além da interação com os receptores glutamatérgicos, contribui para o seu efeito antinociceptivo. Apoio Financeiro: CNPq, FINEP, PRONEX e CAPES.

04.034

EFEITO DA LESÃO DO NÚCLEO PARATRIGEMINAL PELO ÁCIDO IBOTÊNICO NO CONTROLE DA TEMPERATURA CORPORAL. ¹Balan, A.Jr.**; ¹Yu, Y.G.**; ²Souza, G.E.P.; ¹Lindsey, C.J. ¹Departamento de Biofísica, UNIFESP, S.P., Brasil. ²Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, S.P., Brasil.

Introdução: O núcleo paratrígeminal (Pa5), possui conexões com estruturas bulbares (núcleo reticular lateral, parabraquiais e trato solitário) associadas à termorregulação corporal. Destaca-se também o padrão de aferências com o glossofaringeo, trigêmio e vago. Este estudo objetiva investigar o papel do Pa5 no controle da temperatura corporal de ratos. Métodos: Sob anestesia com Equitesin (0,4 ml/kg), ratos Wistar (280-

300g) foram craniotomizados e o Pa5 foi lesado bilateralmente (Pa5X) pela microinjeção de ácido ibotênico (1,5 mg/0,5 µL). Ainda sob anestesia, termistores foram implantados na cavidade abdominal para medida de temperatura corporal. A temperatura corporal e o fluxo sanguíneo caudal foram monitorados à temperatura ambiente de 27 ± 1°C durante 20 min. do primeiro ao quarto dia após a cirurgia. Resultados: O grupo Pa5X apresentou uma temperatura corporal média inferior ao grupo controle (Sham) (36,4 ± 0,2 vs. 37,0 ± 0,1°C, p= 0,03). A análise do registro da temperatura basal do grupo Pa5X revelou que estes animais apresentam oscilações espontâneas na temperatura basal em média de 0,4 °C enquanto o grupo Sham apresentava um registro basal estável com variações lentas de no máximo 0,1 °C. As oscilações observadas na temperatura apresentam uma relação direta com a variação no fluxo de sangue na cauda, a qual aparece 13 ± 1 segundos antes da oscilação observada na temperatura corporal do animal Pa5X. Conclusões: Estes resultados sugerem que a lesão do Pa5 induz a perda do controle fino de regulação da temperatura corporal relacionada ao controle do fluxo de sanguíneo caudal. Isto se reflete nas oscilações espontâneas da temperatura corporal antecipadas pela vasodilatação ou vasoconstrição da circulação caudal.

04.036

ENVOLVIMENTO DO LOCUS COERULEUS NA VIA EFERENTE DA FEBRE. Maria Camila Almeida, Fisiologia/FMRP/USP Alexandre Alarcon Steiner, Fisiologia/FMRP/USP Luiz Guilherme S. Branco, Morfologia Estomatologia e Fisiologia/FORP/USP

Objetivos: O objetivo do presente estudo foi estudar o papel do Locus coeruleus (LC) na febre induzida por LPS em ratos, bem como definir se este núcleo faz parte de uma via aferente ou eferente da febre. Métodos: Utilizaram-se ratos Wistar machos. Os animais tiveram o LC lesados, o ventrículo lateral canulado para realização de injeções intracerebroventricular (i.c.v.) e uma sonda introduzida para medidas da Tc por biotelemetria. 3 dias após as cirurgias os animais receberam LPS intraperitoneal (50microgramas/kg) ou salina. A Tc desses animais foi medida por 6 horas. Outro grupo de animais receberam PGE2 i.c.v. (20nmol/2microlitros) ou veículo (20% de etanol em salina). A Tc desses animais foi monitorada por 1 hora. Resultados: Não foram observadas alterações na Tc basal dos animais submetidos à lesão do LC. Os animais com lesão fictícia que receberam LPS i.p. tiveram um aumento bifásico da Tc de 1.1 ± 0.3°C e 1.5 ± 0.2°C com pico 3 e 5 horas após a injeção respectivamente. Os animais com lesão do LC tiveram uma redução significativa da resposta no segundo pico de aumento da Tc (0.5 ± 0.2°C, p<0.05). Os animais com lesão fictícia que receberam PGE2 i.c.v. tiveram um aumento da Tc de 0.9 ± 0.2°C, com pico 20 minutos após a injeção. A lesão do LC aboliu totalmente o aumento na Tc induzido por PGE2 (p<0.05). Conclusão: Esses resultados indicam que o LC possui um importante papel na febre induzida por LPS em ratos. Além disso, podemos concluir que este núcleo faz parte da via eferente de controle da Tc, estando situado após a PGE2 na cascata febril. Apoio Financeiro: FAPESP, CNPq e PRONEX.

04.037

ROLE OF VAGAL NERVES IN FEVER, NEUTROPHILIA AND NEUTROPHIL MIGRATION INDUCED BY LIPOPOLYSACCHARIDE (LPS) IN RATS. Fraga, D¹, Werner, MFP¹, Reis, RC¹, Melo, MCC², Souza, GEP², Zampronio, AR¹. ¹Dept Pharmacology, UFPR. ²Lab. Pharmacology, FCFRP, USP.

Introduction: We investigated the relevance of vagus nerves on neutrophil (NEUT) migration, neutrophilia and fever after i.p. LPS injection. Methods: Male Wistar rats received LPS (i.p. or intrapleural) or pre-formed pyrogenic factor (PPFF, i.v., i.c.v. or i.p.). Fever was measured by a rectal probe every 30min for 6h and peritoneal or pleural fluid and blood were collected for NEUT migration and neutrophilia evaluation. All parameters were observed in naïve, vagotomized (VGX) or sham (SH) rats, and after treatment with atropine (AT, 1.6µg/kg), tubocurarine (TC, 2.0µg/kg) and α-bungarotoxin (BT, 135ng/kg).

Results: LPS, 0.02-200 µg/kg, induced a dose-related neutrophilia and fever (peak 200µg/kg, 1.1±0.9x 10⁶ cells/mL, 1.1±0.1°C) but NEUT migration resulted in a bell-shaped curve (peak 0.2µg/kg, 3.5±0.4x10⁶ cells/mL). Subdiaphragmatic vagotomy reduced peritoneal resident cell population (56%), LPS-induced fever (71%) and the NEUT migration (43%) but did not change the neutrophilia or NEUT migration to pleural cavity. TC or BT, but not AT, reduced the PMN migration (37% and 72%). Macrophages from VGX and SH rats produced PPFF that induced a similar fever (1.0±0.05°C i.v., 0.7±0.1°C i.c.v) in naïve rats and PPFF (i.p.) also induced similar fever in VGX and Sham rats.

Conclusion: These results show a bi-directional communication between the mononuclear phagocytic and central nervous system through efferent and afferent nerves that control resident cell population/PMN migration and fever, respectively.

Financial Support: FAPESP, CNPq

04.038

IL-1 MEDIATES FEVER INDUCED BY CENTRAL ENDOTHELIN-1 AND CORTICOTROPIN-RELEASE FACTOR INJECTION. Fabricio, A.S.C.; Penatti, R.C.; ¹Zampronio, A.R.; ²D'Orléans-Juste, P.; ³Rae, G.A.; Souza, G.E.P.; of Laboratory of Pharmacology, FCFRP-USP and Depts. of Pharmacology ¹UFPR, Curitiba; ²Faculty of Medicine University of Sherbrooke, CA.; ³CCB-UFSC, Florianópolis.

Introduction: We have shown that endothelins (ETs) play an important role, via central ET_B receptors, in fever induced by corticotropin-releasing factor (CRF) in rats, and that dexamethasone reduces fever induced by CRF and ET-1 (Fabricio et al., Brit. J. Pharmacol., *submitted*). We now investigated the roles of cytokines in fever induced either ET-1 or CRF.

Methods and Results: Body temperature (bT) was recorded by radiotelemetry in male Wistar rats (ca. 200 g b.w.) for 6 h after i.c.v. pyrogen injections. Fifteen min before pyrogens, rats were given either an antagonist of IL-1 receptors (IL-1ra, 9.1 nmol) or subtype I soluble receptor of TNF (sTNFRI, 23.8 pmol). At 3 h, fever induced by IL-1β (180 fmol) or CRF (1.05 nmol) was markedly

reduced by IL-1ra (from 1.3 ± 0.07° to 0.58 ± 0.1°C and 1.3 ± 0.12 to 0.76 ± 0.13°C, respectively, P< 0.05), while that induced by ET-1 (1 pmol) was abolished (from 0.8 ± 0.07 to 0.1 ± 0.06°C, P< 0.05). On the other hand, sTNFRI reduced fever induced by TNF-α (from 1.5 ± 0.2 to 0.9 ± .05°C, P< 0.05), but did not modify the fever induced by ET-1. Neither IL-1ra nor sTNFRI altered the basal temperature of control rats. Conclusions: Our finding that IL-1ra inhibits fever induced by ET-1 as well as by CRF implicates IL-1 in the fever mechanisms situated downstream from endothelin ET_B receptors. Support: FAPESP (grants 98/9738-0 and 97/9837-6) and CNPq.

04.039

PROSTAGLANDINS AND CYTOKINES MEDIATE BRADYKININ-INDUCED FEVER IN RATS. Santos, DR, ¹Fabricio, ASC, ²Calixto, JB & ¹Souza, GEP ¹Lab. Pharmacology, FCFRP-USP, Ribeirão Preto-SP and ²Dept. of Pharmacology, UFSC, Florianópolis-SC, Brazil.

Aim: To investigate the effect of IL-1 receptor antagonist (IL-1ra), soluble TNF receptor (sTNFr) and anti-IL-6 antibody (IL-6Ab) and the levels of PGE₂ and PGF_{2α} in the cerebrospinal fluid (CSF) of febrile animals after BK.

Methods: Male Wistar (≈200 g) rats were treated with artificial cerebrospinal fluid (aCSF), IL-1ra (200 µg), sTNFr (0.5 µg) or IL-6Ab (5 µg) icv 15 min before icv injection of BK (10 nmol), IL-1β (3 ng), TNF-α (250 ng) or IL-6 (500 ng). Captopril (5 mg/kg, sc) was given 1 h before BK injection to inhibit BK degradation. Body temperature (bT) was measured each 30 min, during 6 h after pyrogenic stimuli injection. CSF was harvested by puncture of cisterna magna at 0.5, 1 and 3 after BK (10 nmol, icv) or LPS (5 µg/kg, iv) and level of PGE₂ and PGF_{2α} was evaluated by immunoenzyme assay.

Results:

Table 1: IL-1β, TNF-α and IL-6 are involved in different phases of BK-induced fever.

Treatment	bT(°C) at 3 rd h	Treatment	bT(°C) at 2 nd h	Treatment	bT (°C) at 4 th h
aCSF+IL-1β	0.9±0.04	aCSF+TNF-α	1.5±0.11	aCSF+IL-6	1.2±0.05
IL-1ra+IL-1β	0.3±0.11*	sTNFr+TNF-α	1.05±0.05*	IL-6Ab+IL-6	0.7±0.05*
aCSF+BK	0.9±0.05	aCSF+BK	0.7±0.04	aCSF+BK	1.2±0.05
IL-1ra+BK	0.3±0.07*	sTNFr+BK	0.3±0.07*	IL-6Ab+BK	0.7±0.05*

Table 2: Levels (pg/ml) of PGs during fever caused by BK or by LPS.

Treatment	PGE ₂		PGF _{2α}	
	0.5 h	3 h	0.5 h	3h
Saline	51±6	56±4	59±11	46±10
LPS	322±70*	430±26*	735±135*	153±16*
aCSF	165±47	128±52	172±8	82±34
BK	407±70*	767±23*	517±67*	180±60*

* (P<0.05)

Conclusion: PGs, IL-1β, TNF-α and IL-6 seems to be involved in the fever induced by BK. Support: FAPESP.

04.040

BIOGENESIS OF LEUKOCYTE LIPID BODIES. Pacheco P; Vieira-de-Abreu, A, Castro-Faria-Neto HC & Bozza, PT. Lab. Imunofarmacologia, DFF, FIOCRUZ, RJ.

Introduction: Lipid bodies (LB) are nonmembrane bound, lipid and enzyme-rich inclusions abundant in cells associated with inflammatory reactions that play important roles in lipid mediator

generation. The mechanisms involved in leukocyte lipid body biogenesis are mostly unknown. Here we investigate the mechanisms involved in macromolecular trafficking that leads to lipid and protein coalescence to form lipid bodies.

Methods and Results: The role for ER/Golgi trafficking in lipid body formation was investigated by the treatment of cells with brefeldin A (BFA) that causes a reversible interruption of ER/Golgi trafficking and disassembly of Golgi complex. Pretreatment with BFA (1 μ M) significantly inhibited LPS-induced LB formation in macrophages *in vitro* (from 14.1 \pm 0.7 in untreated to 6.5 \pm 0.7 in BFA treated cells). Cytoskeleton integrity is crucial for intracellular transport of macromolecules and organelles, and consequently to cell morphogenesis and functioning. By the use of fluorescent phalloidin we demonstrated that lipid bodies are enmeshed in a cytoskeleton network. Moreover, pretreatment (1 h, 0.1 μ M) with drugs that disrupt microfilament (cytochalasin B, 89% inhibition) and agents acting on microtubule assembly (colchicine and latrunculin B, 97% and 94% inhibition) significantly inhibited LPS-induced lipid body formation.

Conclusion: Our results indicate that LPS-induced leukocyte lipid body formation depends on lipid and protein redistribution from ER and Golgi. Moreover, cytoskeleton network do play a role in lipid body formation, assembly and cellular localization.

Support: Howard Hughes Medical Institute and CNPq

04.041

LEPTIN INDUCES LEUKOCYTE LIPID BODY FORMATION AND EICOSANOID PRODUCTION. Clarissa Maya-Monteiro; Gisely G. Almeida; Hugo C. Castro-Faria-Neto; Patrícia T. Bozza. Laboratório de Imunofarmacologia, Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica – IOC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro-RJ.

Introduction: Leptin is the hormone produced by adipose tissue that regulates body weight. This hormone was also shown to be involved in inflammation and immune response by enhancing activation of lymphocytes and monocytes. As Leptin is related both with lipid metabolism and inflammation, we decided to investigate its action in leukocyte lipid bodies. Lipid Bodies are cytoplasmic depots of esterified arachidonate and eicosanoid-forming enzymes, surrounded by a phospholipid monolayer. Thus, lipid bodies are correlated with the formation of eicosanoid mediators by leukocytes.

Methods and Results: Lipid bodies can be seen and counted in cytoplasm as osmiophilic inclusions that vary in number and size depending on the inflammatory stimuli. We observed an enhanced number of lipid bodies in mouse (C57Bl/6) peritoneal macrophages when these cells were incubated *in vitro* with mouse leptin (0.5 μ g/mL). Moreover, the intraperitoneal injection of leptin (1 mg/Kg) induced a significant increase in lipid body numbers in leukocytes recovered from the mouse peritoneal cavity, after 24 hours. In parallel, leptin induced neutrophil accumulation and an enhanced PGE₂, LTB₄ and IL-8 production in the peritoneal cavity.

Conclusions: Our data show that leptin induces leukocyte lipid body formation both *in vitro* and

in vivo. Moreover, leptin act as a pro-inflammatory hormone/cytokine inducing leukocyte activation and migration as well as eicosanoid production. Supported by CNPq, FAPERJ and Howard Hughes Medical Institute.

04.042

LIPID BODY FORMATION AFTER EXPERIMENTAL AND CLINICAL SEPSIS. Pacheco P¹; Gomes RN¹; Bozza FA¹; Bozza MT²; Castro-Faria-Neto HC¹ & Bozza PT¹. ¹Lab. Imunofarmacologia, DFF, FIOCRUZ, RJ. ²Instituto de Microbiologia, UFRJ.

Introduction: Lipid bodies (LB) are rapidly inducible, specialized cytoplasmic domains for eicosanoid-forming enzyme localization, which we hypothesize, may have specific roles in enhanced inflammatory mediator production during pathological conditions, including sepsis.

Methods and Results: We show that lipid body numbers were increased in osmium stained leukocytes from septic patients (17.4 \pm 0.2 LB/cell) in comparison to healthy subjects (2.5 \pm 0.1 LB/cell). By immunocytochemistry, 5-lipoxygenase and cyclooxygenase-2 were immunolocalized within lipid bodies from septic patients. The pro-inflammatory cytokines involved in the pathogenesis of sepsis, TNF- α and MIF, were also shown to colocalize within lipid bodies. The role of MCP-1 in lipid body formation was studied in animals deficient of MCP-1. Drastic increase in lipid body numbers were observed in WT (from 3.9 \pm 0.3 to 19.3 \pm 0.6) but not in MCP-1^{-/-} mice (from 6.0 \pm 0.5 to 6.0 \pm 0.1) submitted to experimental sepsis by cecal ligation and puncture.

Conclusion: In conclusion, our studies indicate that lipid bodies formed during sepsis are sites for eicosanoid forming enzymes and cytokine localization and may develop and function as intracellular sites for paracrine eicosanoid synthesis during inflammatory conditions. Moreover, MCP-1 seems to play a requisite role in lipid body formation during sepsis.

Support: Howard Hughes Medical Institute and CNPq

04.043

REDUÇÃO DA ADEÇÃO DE NEUTRÓFILOS AO ENDOTÉLIO NA SEPSE. Moreno, SE; Benjamin, CF; Ferreira, SH & Cunha, FQ - Depto de Farmacologia, FMRP/USP

Introdução: A migração de neutrófilos (n ϕ) é uma etapa crítica para a resolução de um processo infeccioso bacteriano. Na sepse foi observado que a falência da migração de n ϕ para o foco infeccioso a qual contribui para a gravidade do quadro e aumento da mortalidade. A falência da migração de n ϕ deve-se a uma redução da adesão dos n ϕ circulantes ao endotélio das vénulas, processo este mediado pelo NO. **Objetivos:** O objetivo do trabalho é investigar se esta redução da adesão ao endotélio deve-se a incapacidade de adesão dos n ϕ ou do endotélio venular. **Métodos** Para o ensaio de adesão, mesentérios de camundongos C57 sham operados ou submetidos a CLP (cecal ligation and puncture) Letal (CLP-L) e Sub-letal (CLP-SL) foram retirados 6 h após a cirurgia e fixados em Tissue-tek, cortes de 10 μ m foram incubados por 45 min com n ϕ isolados de

animais normais ou em sepse. As lâminas foram coradas e o número de n ϕ aderidos em cada vaso determinado. **Resultados:** Vasos do mesentério de animais CLP-SL quando incubados com n ϕ *in vitro*, apresentaram maior número de células aderidas ao endotélio (5,12 + 1,27* n ϕ /vaso) quando comparado com os vasos do mesentério de animais CLP-L (1,58 + 0,49 n ϕ /vaso) ou grupo controle (1,29 + 0,76 n ϕ /vaso). **Resultados** representativos de 2 experimentos. **Discussão** A redução da migração de n ϕ observada na sepse deve-se provavelmente a menor expressão de moléculas de adesão no endotélio o que explicaria a redução da capacidade de adesão dos n ϕ , podendo ser este um dos mecanismos envolvidos na falência da migração de n ϕ para a cavidade peritoneal de animais durante a sepse severa. **Apoio Financeiro** CAPES, FAPESP, CNPq e FAEPA

04.044

DESNUTRIÇÃO INTRA-UTERINA REDUZ MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA M.A.V.Landgraf**; M.C.P.Franco**; V.M.F.Rastelli*; D.Nigro; R.C.T.Passaglia; M.H.C.Carvalho; Z.B.Fortes. Departamento de Farmacologia, ICB/USP.

A desnutrição intra-uterina pode afetar permanentemente estrutura e função de vários órgãos e tecidos. Além disso, sabe-se que a desnutrição intra-uterina predispõe indivíduos a infecções. **Objetivo:** Estudar a capacidade migratória dos leucócitos (componentes importantes da resposta inflamatória à injúria tecidual) em indivíduos desnutridos intra-uterinamente.

Métodos e Resultados: Para estudar a capacidade dos leucócitos aderirem e migrarem após estímulo inflamatório, utilizamos ratos Wistar machos adultos (6-9 semanas) provenientes de mães submetidas à desnutrição durante a gestação (desnutridos) e de mães submetidas a dieta *ad libitum* (nutridos). A desnutrição das fêmeas foi efetuada pela redução de 50% da oferta de ração durante todo período gestacional. Após anestesia por pentobarbital sódico (40 mg/kg, i.p.), a fascia espermática foi exposta para contagem dos leucócitos que rolam ("rollers") sobre o endotélio de vénulas (14-18 μ m), aderem em extensão de 100 μ m de vénula após 2 horas da injeção de TNF- α (500pg/0,1 mL) na bolsa escrotal e após 10 minutos da aplicação tópica de leucotrieno B₄ (LTB₄-1 μ M/0,1mL), plasma homólogo (0,1 mL/10%) ativado com zimogênio (ZAP) e TNF- α (500pg/0,1 mL) e migram após 2 horas após a injeção de TNF- α (500pg/0,1 mL) na bolsa escrotal. O número de "rollers" em machos desnutridos (79,4 \pm 2,8 céls./10 min) foi significativamente menor do que nos ratos nutridos (122,3 \pm 1,3 céls/10 min). O número de leucócitos que aderem foi menor em desnutridos (8,8 \pm 0,4 céls.; 12,4 \pm 0,4 céls.; 6,9 \pm 0,5 céls. e 7,4 \pm 0,6 céls., respectivamente LTB₄, ZAP TNF- α tópico e TNF- α injetado) do que em nutridos (15,9 \pm 0,8 céls., 17,7 \pm 0,8 céls., 16,4 \pm 0,9 céls. e 14,5 \pm 0,9 céls., respectivamente LTB₄, ZAP TNF- α tópico e TNF- α injetado). A migração dos leucócitos também foi reduzida (8,1 \pm 0,7 em desnutridos x 15,2 \pm 0,8 em nutridos).

Conclusão: A desnutrição intra-uterina interfere no comportamento leucocitário, diminuindo o rolar, aderir e migrar dessas células. Isto pode contribuir para maior predisposição à infecção na desnutrição.

Apoio Financeiro: CAPES

04.045

SALIVA DO VETOR *Lutzomyia longipalpis* INIBE A MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS INDUZIDA POR OVA EM CAMUNDONGOS IMUNIZADOS. Monteiro, M.C.¹; Romão, P.R.T.², Nogueira, L.G.¹; Rossi, R.¹; Souza, A.A.³; Ferreira, S.H.¹ & Cunha, F.Q.¹ Dpto de Farmacologia/FMRP-USP/RP, Lab. de Imunoparasitologia²/UNISUL-Tubarão/SC, Dpto. de Parasitologia³-IEC-PA.

Introdução: Os neutrófilos constituem a primeira linha de defesa celular contra agentes patogênicos e são predominantes na maioria dos processos inflamatórios agudos e em algumas doenças, como artrite reumatóide, glomerulonefrite e doença de Crohn's. Estudos recentes demonstram que a saliva de hematófagos apresenta efeitos imunossupressores, vasodilatadores, anti-plaquetários e anti-inflamatórios. **Objetivo:** Avaliar o efeito do extrato de glândulas salivares do vetor *L. longipalpis* na migração leucocitária induzida por OVA (ovalbumina) em camundongos imunizados. **Métodos:** Camundongos BALB/c receberam 3 imunizações s.c de 0,2 ml de uma emulsão contendo PBS/CFA ou PBS/IFA com ou sem 100 ug de ovalbumina. Após 7 dias da última imunização, o extrato de uma glândula salivar foi injetado i.v. e após 4 horas foi feito o desafio com 10 ug de OVA i.p. A migração celular foi avaliada 4 e 48 horas após a injeção do desafio por contagem total e diferencial. **Resultados:** Na 4^o hora, camundongos imunizados e desafiados com OVA apresentaram aumento significativo do número de neutrófilos ($4.31 \times 10^6 \pm 1.08 \times 10^6 \text{cél/cav.}$). A injeção do extrato salivar inibiu este recrutamento ($1.706 \times 10^6 \pm 0.106 \times 10^6 \text{cél/cav.}$), semelhante aos animais não imunizados e injetados com OVA ($1.188 \times 10^6 \pm 0.996 \times 10^6 \text{cél/cav.}$). Contudo, o extrato salivar potencializou o recrutamento de eosinófilos na 48^o hora. **Conclusão:** A saliva do vetor da *Leishmania* inibiu a migração de neutrófilos e potencializou o influxo de eosinófilos induzida por OVA. **Apoio:** CAPES

04.046

INIBIÇÃO PRODUZIDA PELO ÁCIDO GENTÍSI-CO SOBRE A MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA NA PERITONITE E PLEURISIA INDUZIDAS POR CARRAGENINA EM CAMUNDONGOS. ¹Teixeira, C.; ¹Martins, R.; ¹Longhi, D.T.; ¹Ballmann, J.D.; ¹Scremin, A.; ¹Paulino, N. 1. Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Biofármacos, BIOFAR, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, SC.

Introdução: O AG é um metabólito ativo da rota de degradação dos salicilatos com atividade antireumática, antioxidante e relaxante sobre o músculo liso respiratório. Nosso objetivo é avaliar a influência do AG na inflamação pleural e peritoneal. **Métodos:** Foram usados camundongos (25-30g, n=5) tratados i.p. com salina, AG ou indometacina, 30 min, ou dexametasona (DX) 4 h antes da indução da peritonite ou pleurisia pela carragenina, 1mg/mL ou 100µg/cavidade, respectivamente. O exudato peritoneal, pleural e o sangue periférico foram coletados 4 ou 6 horas, respec-

tivamente, após a indução flogística. Foi analisado o número total de leucócitos e o diferencial celular dos grupos de tratamento (AG 10 e 30mg/Kg) em comparação ao grupo salina, dexametasona (0,5mg/Kg) ou indometacina (10mg/Kg). **Resultados:** Na pleurisia, o AG 10 ou 100mg/Kg produziu $23 \pm 7,3\%$ ou $32 \pm 9\%$ de inibição no total de células da cavidade, respectivamente. Enquanto a DX 0,5mg/Kg inibiu $75 \pm 9\%$. Na peritonite, o AG 10 ou 30mg/Kg produziu inibição de $25 \pm 2,5\%$ ou $32 \pm 3\%$ da migração de células para o peritônio, enquanto que a indometacina inibiu $20 \pm 2,2\%$. **Discussão:** O AG produziu inibição da migração celular para a cavidade peritoneal e pleural sem alterar o total de células circulantes. Este efeito parece estar relacionado a capacidade do AG de modular a atividade de canais de potássio, direta ou indiretamente, reduzindo a capacidade de ativação celular.

Apoio: BIOFAR-UNISUL/Prodapys

04.047

NEUTROPHIL CHEMOTAXIS *IN VITRO* INDUCED BY CHEMOATTRACT AGENTS IN CONTROL AND CAPSAICIN TREATED RATS. Franco-Penteado, C.F.¹; De Souza I.A.¹; Camargo, E.A.¹; Teixeira, S.A.²; De Nucci, G.²; Antunes E.¹ ¹Department of Pharmacology, FCM, UNICAMP; ²Department of Pharmacology, ICB, USP.

Introduction and Goal: Neonatal capsaicin (CPS) treatment in rats degenerates vanilloid-sensitive primary afferent and cause neuropeptide depletion (1). Previous *in vivo* studies showed that the neutrophil influx into airways is increased in response to non-allergic stimulus such as ozone (2) and lipopolysaccharide (3). Moreover, intratracheal injection of OVA into actively sensitized rats exacerbates the neutrophil accumulation into CPS-treated animals (4). In this study we examined the ability of different chemotaxis agents (fMLP, substance P and PAF) to attract neutrophils from control and neonatal CPS-treated rats. **Methods and Results:** Wistar rats were treated with CPS (30 mg/kg, s.c.; 2nd day of life). Control animals received vehicle. Sixty to seventy days later, the animals were sacrificed and whole blood was collected. Neutrophils were obtained by dextran sedimentation followed by Ficoll gradient centrifugation. Neutrophil migration was measured using 96-well chemotaxis chamber. The number of migrated neutrophils was assessed by determination of the MPO activity.

Neutrophils (x10 ⁷ /ml)	MEM	fMLP (10 ⁻⁷ M)	PAF (10 ⁻⁷ M)	SP (5x10 ⁻³ M)
Control	6.6 ± 0.4	13.1 ± 2.7*	18.6 ± 1.8*	17.5 ± 1.2*
CPS	6.9 ± 0.4	13.9 ± 1.0*	17.5 ± 4.3*	18.9 ± 1.1*

Conclusions: A similar profile of chemotaxis was observed with neutrophils from control or CPS-treated rats suggesting that neutrophils functions is unaffected by neonatal neuropeptides depletion. **References:** 1. Jancsó et al. (1977) Nature 270, 741-743. 2. Sterner-Kock et al. (1996) Am J Resp Crit Care Med 153, 436-443. 3. Long et al. (1996) Am J Physiol 271, L425-431. 4. Medeiros, M.V. et al. (2001) Eur J Pharmacol 421, 133-140. **Financial Support:** Fapesp

04.048

EFFECT OF NEONATAL CAPSAICIN TREATMENT ON NEUTROPHIL ADHESION IN VITRO. Franco-Penteado, C.F.¹; De Souza I.¹; Camargo, E.A.¹; Conran, N.²; De Nucci, G.³; Antunes E.¹ ¹Department of Pharmacology, FCM, UNICAMP; ²Department of Hematology, FCM, UNICAMP; ³Department of Pharmacology, ICB, USP.

Introduction and Goal: Adherence to vascular endothelium and extracellular matrix proteins is a pre-requisite for neutrophil accumulation at sites of inflammation. Recent results showed that neonatal capsaicin (CPS) treatment causes an exacerbated neutrophil recruitment into BAL in response to ovalbumin in rats. In this study, blood neutrophil adherence to fibronectin and rat serum coated-plates in response to fMLP and PMA was measured. The mechanisms involved have been investigated using antibodies against VLA-4 and Mac-1.

Methods and Results: Wistar rats were treated with CPS (30 mg/kg, s.c.; 2nd day of life). Control animals received vehicle. Sixty to seventy days later, the animals were sacrificed and whole blood was collected. Neutrophils were obtained by dextran sedimentation followed by Ficoll gradient centrifugation and adhesion assays were performed. The number of adherent neutrophils was measured by MPO content of adherent cells and expressed as % adhesion.

% adhesion	Serum		Fibronectin	
	Control	CPS	Control	CPS
MEM	47.2±4.4	48.8±1.9	49.7±1.2	49.2±2.9
fMLP (10 ⁻⁷ M)	67.1±6.7*	65.4±2.9*	56.0±2.5*	73.3±1.4*
fMLP + AbVLA-4	33.9±1.5*	31.5±3.6*	26.0±3.6*	32.9±0.7*
fMLP + AbMac-1	36.5±3.7*	29.5±1.5*	27.8±1.8*	34.5±1.4*
PMA (10 ⁻⁶ M)	70.2±6.3*	72.7±5.4*	71.1±5.8*	76.3±6.0*
PMA + AbVLA-4	43.0±6.0*	34.5±4.6*	29.9±2.1*	20.6±0.9*
PMA + AbMac-1	44.7±4.8*	35.7±2.7*	37.8±3.8*	33.1±0.4*

*p<0.05 compared to MEM; *p<0.05 compared to fMLP/PMA

Conclusions: The neutrophil adhesion was regulated by integrins (VLA-4/Mac-1), but the CPS treatment had no effect upon neutrophil adhesion to fibronectin or serum in response to fMLP and PMA. **Financial Support:** Fapesp

04.049

PARTICIPAÇÃO DE SUBSTÂNCIA P E NEUROKININAS A E B NO RECRUTAMENTO CELULAR INDUZIDO PELA FORMALINA EM RATOS. Santos, JMM e Francischi, JN. Departamento de Farmacologia-ICB-UFMG, Belo Horizonte-MG-Brasil.

Introdução: Trabalhos anteriores demonstraram que formalina induziu aumento significativo de leucócitos para a cavidade peritoneal de ratos. O objetivo do presente trabalho foi investigar a participação dos neuropeptídeos SP, NK A e NK B nessa migração, através do tratamento prévio dos animais com antagonistas específicos dos receptores para taquicíninas (NK-1, NK-2 e NK-3, respectivamente). **Métodos:** Ratos Holtzman (140-170g) foram injetados (via intramuscular-IM), com SR140333 (ant. em NK-1), SR 48968 (ant. em NK-2) e SR 142801 (ant. em NK-3), gentilmente cedidos pela Sanofi Recherche, 15 min. antes da injeção ip de formalina 1,25 ou 2,5% (1 mL). O lavado peritoneal obtido nos tempos

de 4 e 24 horas foi centrifugado e as células foram preparadas para contagens total (cels/mm³) e específica (%). Os animais controle receberam o mesmo volume de solução de etanol (50 µL) e salina fisiológica estéril (950 µL). Resultados: Todos os antagonistas utilizados reduziram significativamente ($p < 0,05$; teste t ANOVA) o aumento de neutrófilos e linfócitos após 4 h da injeção de formalina (1,25 %), sendo que somente o antagonista de receptores NK-2 inibiu a migração de linfócitos após 24 h da injeção de formalina (2,5 %). Pizotifeno, antagonista de serotonina, não apresentou efeito ($P > 0,05$) na migração celular induzida pela formalina. Conclusão: SP, NK A e NK B parecem estar envolvidas especificamente na migração aguda (4 h) de leucócitos, enquanto apenas SP e NK A podem estar envolvidas com a migração tardia de linfócitos após a injeção de formalina. Suporte financeiro: CAPES, CNPq e FAPEMIG.

04.050

PAPEL DAS CITOCINAS E DA MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS NA MODULAÇÃO DOS RECEPTORES B1 PARA AS CININAS EM RATOS PRÉ-TRATADOS COM PAF. Fernandes, E.S., Passos, G.F., Campos, M.M., Teixeira, M.M., Souza, G.E.P., Calixto, J.B. Departamento de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC; 1 Departamento de Imunologia, UFMG, Belo Horizonte, MG.; 2 Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, Ribeirão Preto, SP

Introdução: Recentemente, demonstramos que a resposta edematogênica mediada pelos receptores B1 está aumentada em ratos tratados com PAF (XVI FESBE, res:14-034). No presente trabalho analisou-se o papel das citocinas e da migração de neutrófilos nas respostas causadas pelo agonista B1 a des-Arg9-BK após tratamento com PAF. Métodos e Resultados: Foram utilizados ratos machos Wistar (140-160g). O tratamento dos animais com anticorpo anti-IL-1beta ou com o antagonista de receptor da IL-1, IRA, reduziu o edema para DABK (56% e 59%). O anticorpo anti-TNFalfa e a IL-10 também reduziram o edema causado pela DABK (45% e 34%). Além disso, o anticorpo anti-PMN (1:4, 100 microl/300g, i.p., 30 min antes) reduziu o edema da DABK (42%). A injeção de PAF (10 nmol, i.p., 1-24 h) aumentou (cerca de 8 vezes) a migração de neutrófilos 6 e 12h após. O WEB2086 e a des-Arg9-Leu8-BK (antagonista do PAF e do receptor B1, respectivamente), inibiram a MPO (61 e 46 %). A fucoidina (inibidor de molécula de adesão) e o PDTC (inibidor do NF-kappaB), reduziram a MPO (38 e 45%). A dexametasona não interferiu com a MPO enquanto que a cicloheximide aumentou a atividade da MPO (224%). O tratamento com anticorpo anti-IL1beta, anti-TNFalfa ou com a IL-10 não foi capaz de alterar a atividade da MPO, enquanto o IRA aumentou em cerca de 73% a MPO. Finalmente, o tratamento com PAF aumentou de forma tempo-dependente a expressão de TNFalfa e do receptor B1 para as cininas nas patas dos animais. Conclusões: Tanto as citocinas quanto os neutrófilos, moléculas de adesão, NF-kappaB e a síntese de novas proteínas exercem um importante papel no aumento funcional e na expressão dos receptores B1 para as cininas nos animais tratados com PAF. Apoio financeiro: CAPES, CNPq, FINEP, PRONEX, PIBIC/Iniciação

04.051

PARTICIPAÇÃO DA MIP-1α NA MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS INDUZIDA POR ANTÍGENO. Ramos CDL, Cannetti C, Santana J, Ferreira SH, Cunha FQ, Depto de Farmacologia e Depto de Imunologia Básica e Aplicada da FMRP-USP

Introdução: Resultados recentes demonstram que a migração de neutrófilos em animais imunizados e desafiados com OVA é dependente da liberação de LTB4 e TNF-α, com aumento de RNAM para a quimiocina CC MIP-1α e seus receptores CCR1, CCR4 e CCR5. Neste presente trabalho investigamos o papel da MIP-1α na migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal após imunização e desafio com OVA, bem como o mecanismo envolvido na migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal induzida pela MIP-1α. Métodos: camundongos C57Bl/6, MIP-1α^{-/-} e CCR5^{-/-} foram imunizados conforme técnica já descrita (Canetti, Br. J. Pharmacol, 2002; 134:1619). No 21º dia os animais foram desafiados ip com OVA ou PBS ou utilizados como doadores de células peritoneais e esplenócitos para ensaios in vitro. A migração de neutrófilos induzida pela MIP-1α foi avaliada em camundongos C57Bl/6 e p55^{-/-}. As animais C57Bl/6 foram pré-tratadas com anti-TNFα(ip) ou com MK886(vo), inibidor da síntese de LTB4. Resultados e Discussão: Verificamos por ELISA a presença de LTB4 e TNFα no lavado peritoneal após desafio com OVA em animais C57Bl/6 imunizados, o que não ocorreu com os animais MIP-1α^{-/-}. Reforçando este dado, somente as células peritoneais de animais normais imunizados, quando estimuladas com OVA in vitro liberaram TNF-α no sobrenadante. Em adição, o desafio com OVA em animais CCR5^{-/-} imunizados não inibiu a migração de neutrófilos. O tratamento dos animais com MK886 ou com anti-TNFα inibiu a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal induzida pela MIP-1α. Além disso, a injeção de MIP-1α em animais deficientes para o receptor p55 do TNFα não induziu acúmulo de neutrófilos. Esses resultados indicam o envolvimento do LTB4 e do TNFα na migração de neutrófilos induzida pela MIP-1α. Apoio financeiro: CAPES, FAPESP, Pronex.

04.052

PAPEL DO TNF-alfa NA INFILTRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS E NA LESÃO DA MUCOSA GÁSTRICA INDUZIDAS POR INDOMETACINA EM CAMUNDONGOS. Lemos, H. P. 1, Oliveira, R.B. 1; Souza, M.H.L.P. 1; Cunha, F.Q. 2 - 1 Divisão de Gastroenterologia, Dep. de Clínica Médica; 2 Dep. de Farmacologia 1,2 FMRP-USP, Ribeirão Preto-SP

Introdução: A lesão gástrica por AINEs é um processo dependente de neutrófilos. O TNF-alfa é uma citocina quimiotática para neutrófilos. Objetivo: Avaliar o papel do TNF-alfa na migração de neutrófilos (MN) e na lesão da mucosa gástrica induzidas por indometacina (INDO). Métodos: Camundongos C57/BL6 foram tratados com Talidomida (50mg/Kg 1h antes e 25mg/Kg 6 h depois, i.p.) e Dexametasona (1 mg/Kg 1h antes e 6 h depois, i.p.). Após 1 hora, os

animais receberam por gavagem INDO (10mg.Kg⁻¹). Decorridas 12 horas, os animais foram sacrificados. A Lesão gástrica (LG) foi determinada pela soma das extensões de todas as lesões encontradas (IL-Índice de Lesão) e a MN foi avaliada através da atividade da mieloperoxidase (MPO). Animais deficientes ou não para o receptor p55 do TNF-alfa foram tratados com INDO. Após 12 horas, a LG e a MN foram determinadas. Resultados: O tratamento com DEXA (IL = 3,6 ± 0,3mm; MPO = 269,5 ± 97,2neut/mg) e Talidomida (IL = 5,2 ± 1,1mm; MPO = 616,7 ± 32,3neut/mg) foram capazes de inibir significativamente ($p < 0,05$) tanto a LG quanto a MN por INDO (IL = 11,8 ± 1,9mm; MPO = 1160,1 ± 169,9neut/mg). Os camundongos deficientes para o receptor p55 do TNF-alfa apresentaram com tratamento com INDO tanto uma menor ($p < 0,01$) LG (IL = 7,8 ± 2,1mm), quanto uma menor MN (MPO = 356,1 ± 63,1neut/5mg), quando comparados com os animais não deficientes (IL = 29,8 ± 9,1mm; MPO = 1606,6 ± 182,4neut/5mg). Conclusão: O TNF-alfa está envolvido tanto na MN, quanto na LG induzidas por INDO em camundongos C57BL6. Apoio Financeiro: FAPESP, PRONEX

04.053

EFFECT OF IL-4 PRE-STIMULATION ON IgE-MEDIATED PLEURISY IN RATS. Lima, MCR; Silva PMR; Cordeiro, R.S.B.; Leoni, RD; Ribeiro, VA; Serra, MF & Martins, MA. Lab. Inflammation, IOC/FIOCRUZ, Brazil.

INTRODUCTION: We recently reported that two cycles of passive IgE sensitization and challenge were required to evoke pleural eosinophil (EOS) enrichment, whereas a single one caused a massive plasma leakage without eosinophilia. Here, we postulated that IL-4 generated in the first cycle might favor EOS mobilization noted in the second cycle of IgE sensitization and challenge. METHODS AND RESULTS: Wistar rats were sensitized with an intrapleural (ipl.) injection of a murine anti-dinitrophenyl (DNP) IgE mAb (1 µg/cavity) followed by challenge with DNP-BSA (1 µg/cavity) 24 later. Within 7 days, the animals were subjected to a second cycle of IgE passive sensitization followed by allergen challenge. We found that the number of IL-4 positive cells, recovered from the pleural cavity, increased from $0.9 \pm 0.03 \times 10^{-6}/cavity$ (mean ± S.E.M) in sham-sensitized rats to $3.3 \pm 0.2 \times 10^{-6}/cavity$ in sensitized rats after the first challenge ($p < 0.05$), reaching higher values ($5.5 \pm 0.5 \times 10^{-6}/cavity$, $p < 0.05$) after the second challenge. Replacement of the first cycle of sensitization and challenge by a local injection of IL-4 (1250 – 5000 UI/cavity) led to a marked exacerbation of both exudation and EOS accumulation triggered by allergen challenge 7 days later. CONCLUSION: Our results indicate that IL-4 production is up-regulated following an IgE-mediated inflammatory response, leading to a long lasting priming of the site. This priming clearly favors plasma leakage and EOS recruitment evoked by allergen challenge suggesting that it may be critical in allergic conditions. SUPPORT: CNPq, FAPERJ

04.054

EFFECT OF COMBINED TREATMENT OF SALMETEROL AND FLUTICASONE ON EOSINOPHIL CHEMOTAXIS AND ACTIVATION *IN VITRO*. Alves A, Paiva R, Rocha V, Cordeiro R, ¹Johnson M, ²Lagente V, Martins M & Silva P. IOC/FIOCRUZ, Brazil; ¹GlaxoSmithKline, UK; ²Université de Rennes 1, France.

INTRODUCTION: β_2 -adrenoceptor agonists and glucocorticoids constitute an important therapeutic approach for the treatment of pulmonary allergic diseases. In this study, we evaluated the effect of salmeterol and fluticasone alone or in combination on the eosinophil locomotion and secretion *in vitro*. **METHODS:** Purified rat peritoneal eosinophils were kept in culture for 24 or 48 h with mRL-5 (5 ng/ml) in the presence or in the absence of salmeterol [100 nM] and/or fluticasone [1-100 nM]. Chemotaxis was evaluated in 48-well Boyden chamber and eosinophil peroxidase (EPO) release by means of OPD technique. **RESULTS:** We noted that fluticasone at the highest concentration inhibited PAF-induced eosinophil chemotaxis and EPO release, under conditions where salmeterol was ineffective. Also, the exposure of eosinophils to fluticasone in combination with salmeterol, at concentrations which alone had no effect, led to a marked inhibition of EPO release in response to PAF. Eosinophil migratory response was not altered by the combined treatment. **CONCLUSION:** We showed that eosinophil mediator secretion and migration are sensitive to the direct action of the fluticasone and also that its combination with salmeterol synergises in the case of PAF-induced EPO release inhibition. Since eosinophils are important cells in the context of allergy, the inhibitory synergism noted in the case of EPO release may have relevant implications in the therapy of allergic inflammatory diseases. Financial support: CNPq, FAPERJ.

04.055

BLOQUEIO SELETIVO DO INFILTRADO EOSINOFÍLICO ALÉRGICO OBSERVADO APÓS TRATAMENTO COM O DERIVADO FTALIMÍDICO LASSBio 552 EM RATOS ATIVAMENTE SENSIBILIZADOS. ^{1,2,3}Neves, J.S.; ³Prochnik L., ²Lima, L.M.; ²Fraga, C.A.M., ²Barreiro, E.J., ²Miranda, A.L.P., ³Silva, P.M.R.; ³Martins, M.A., ¹Depto. de Farmacologia Básica e Clínica – ICB – UFRJ, ²Depto de FARMACOS, Faculdade de Farmácia, UFRJ, ³Depto. de Fisiologia e Farmacodinâmica, IOC, FIOCRUZ–RJ.

Introdução: Demonstrou-se recentemente que o composto ftalimídico LASSBio 552 foi capaz de inibir, embora em concentrações elevadas, a atividade espasmódica do leucotrieno D4 no sistema de traquéia isolada de cobaia. O presente estudo objetivou estender a análise do potencial antialérgico do referido composto avaliando seu efeito sobre a resposta inflamatória provocada por desafio pleural alérgico em ratos ativamente sensibilizados. **Métodos e Resultados.** Os animais foram sensibilizados através de injeção subcutânea de ovoalbumina administrada em associação com Al(OH)₃ (adjuvante), sendo desafiados

intrapleuralmente com ovoalbumina (12ug/cavidade) 14 dias depois. Nossos achados mostraram que o tratamento intraperitoneal com LASSBio 552, 1 h antes do desafio antigênico, inibiu o infiltrado pleural de eosinófilos de maneira dose-dependente (ID₅₀ = 70umol/kg, n=7), bem como o de células mononucleares, observados 24 hs após o desafio. Tratamento idêntico realizado com o antagonista de receptor CysLT1, zafirlukast, também bloqueou o acúmulo de ambos subtipos de leucócitos (ID₅₀ = 45umol/kg, n=7) com potência comparada àquela do composto LASSBio 552. Entretanto, tais tratamentos não modificaram outros parâmetros da resposta inflamatória alérgica tais como edema, infiltrado de neutrófilos e acúmulo de leucócitos totais observados 6 hs após o desafio antigênico. **Discussão:** Os resultados indicam que o composto LASSBio 552 é capaz de prevenir de maneira seletiva o infiltrado inflamatório de células mononucleares e eosinófilos. O perfil de ação evidenciado pela análise comparativa com zafirlukast sugere um efeito do tipo bloqueio de receptor CysLT1. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPERJ, Capes

04.057

EFEITO DA PROTEÍNA ANEXINA 1 NOS MASTÓCITOS EM MODELO DE ISQUEMIA/REPERFUSÃO CARDÍACA DE RATO. Sena, AAS¹; Oliani, SM². ¹UNIFESP-EPM, São Paulo, SP; ²IBLCE-UNESP, São José do Rio Preto, SP.

INTRODUÇÃO: A inflamação do miocárdio decorrente da isquemia/reperfusão cardíaca (I/R-C) pode ser mediada por produtos derivados dos mastócitos. Estudos indicaram a atividade antiinflamatória da proteína Anexina 1 (ANX-A1) em modelo de I/R-C (D'Amico et al., 2000, FASEB J, 14, 1). Neste trabalho, avaliamos a participação da ANX-A1 no estado funcional dos mastócitos em modelo de I/R-C.

MÉTODOS: Ratos Sprague-Dawley foram submetidos à oclusão da artéria coronária descendente anterior esquerda por 25 min. Imediatamente após a isquemia, um grupo de animais foi tratado com 50 µg/Kg (iv) de Ac2-26 (mimético da ANX-A1) e outro não, sendo sacrificados após 2h de reperfusão. O grupo de animais controle foi submetido somente a 25min de isquemia. Fragmentos de coração foram fixados (paraformaldeído, 4% e glutaraldeído, 0,5%), incluídos (LR-Gold), cortados (0,5µm), corados (azul de toluidina, 1% em bórax, 1%) e analisados na microscopia de luz. Os dados estatísticos foram obtidos pela ANOVA e teste de Bonferroni.

RESULTADOS: A I/R-C causou diferença significativa entre o total de mastócitos dos animais I/R-C não tratados (0,04 ± 0,009/p < 0,001) e o grupo controle (0,15 ± 0,018/p < 0,001). Houve redução na desgranulação dos mastócitos com o tratamento, comparando o número de mastócitos intactos de I/R-C tratados (0,11 ± 0,02/p < 0,05) e I/R-C não tratados (0,02 ± 0,007/p < 0,05). **DISCUSSÃO:** Sugere-se que a proteína ANX-A1 participa na modulação funcional dos mastócitos em modelo de I/R-C e pode ser aplicada na prevenção contra a lesão tecidual cardíaca induzida por I/R-C.

APOIO FINANCEIRO: FAPESP (01/02440-0)

04.058

PRODUÇÃO DE IgE E DESGRANULAÇÃO DE MASTÓCITOS NA INFECÇÃO POR *ANGIOSTRONGYLUS COSTARICENSIS* EM RATOS. Serra, ME., Azevedo, V., Barreto, E., Carvalho, V., Bonavita, A., Silva, J., Mota, E., Cordeiro, R., Lenzi, H¹., Silva, P. & Martins, M. Lab. Inflamação, Depto Fisiologia e Farmacodinâmica, ¹Depto de Patologia, IOC/FIOCRUZ, RJ.

O nematódeo *A. costaricensis* é responsável pela angiostrongilíase abdominal humana, uma doença associada a lesões ileocecais graves e acentuada eosinofilia. Avaliamos aqui os níveis séricos de IgE, bem como alterações na população de mastócitos presentes em diferentes tecidos de ratos Wistar infectados com *A. costaricensis*. Os ratos foram infectados com 300 larvas L3 oralmente. Em diferentes tempos, após a infecção, os animais foram anestesiados para coleta de sangue e sacrificados para posterior obtenção e análise de mastócitos presentes nas cavidades peritoneal, pleural e no mesentério. A IgE total e a específica foram avaliadas por ELISA e anafilia cutânea passiva (PCA) respectivamente. Neste último ensaio, ratos normais foram sensibilizados através de injeção subcutânea de soro de animais infectados (1/100, v/v) sendo desafiados em 24 h com um extrato de vermes adultos. Verificamos aumento significativo nos níveis de IgE total e específica que foram máximos 25 dias após a infecção. Neste tempo observou-se também redução maciça no número de mastócitos intactos recuperados da cavidade peritoneal e desgranulação de mastócitos mesentéricos, enquanto que os pleurais permaneceram inalterados. Conclui-se que a infecção aumenta os níveis de IgE total e específica e que há estreita correlação temporal entre a produção máxima desta imunoglobulina e a desgranulação de mastócitos peritoneais durante a angiostrongilíase em ratos. **APOIO:** CNPq e FAPERJ

04.059

EFEITO DE TEOFILINA NA INFECÇÃO POR *Strongyloides venezuelensis* EM CAMUNDONGOS BALB/c. Mazzolin, L.P.¹, Sequeira, T.C.G.O.², Gomes, J.C.¹ Depto de Farmacologia¹ e Depto. de Parasitologia²-IB, UNESP, Botucatu, SP, Brasil.

Introdução: Camundongos deficientes de mastócitos possuem uma maior duração da infecção parasitária experimental sugerindo que hiperplasia e ativação de mastócitos podem contribuir para defesa do hospedeiro. O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da teofilina, um eficiente inibidor da secreção de mastócitos, sobre a infecção por *Strongyloides venezuelensis* (Sv).

Métodos: Camundongos machos BALB/c foram infectados com 2000 L₃ de Sv e a intensidade da infecção foi determinada pelo n° de ovos/grama de fezes (OPG). O tratamento (teofilina, 25mg/kg/dia, ip) iniciou-se no 1° dia pós infecção (DPI) e estendeu-se ao 7° DPI quando os animais foram mortos e o intestino delgado retirado para a dosagem do conteúdo total de histamina.

Resultados: A teofilina aumentou a intensidade da infecção nos animais tratados (85900 OPG)

em relação aos animais controle que receberam salina estéril (5500 OPG). A quantidade de histamina presente no intestino delgado não apresentou alterações entre os grupos controle ($1.59 \pm 0.08 \mu\text{g/g}$) e tratado ($1.80 \pm 0.18 \mu\text{g/g}$) para 6 experimentos.

Discussão: A teofilina aumentou a infecção por *Sv* sem, no entanto, aumentar a quantidade de histamina nos mastócitos, o que sugere ausência de degranulação nos animais não tratados.

Apoio financeiro: CAPES

04.060

CHLORIDE-DEPENDENT BASIC AMINOPEPTIDASE (APB) IN PERITONEAL MACROPHAGES FROM MICE. *Oliveira RA, Teixeira CFP, *Silveira PF. Lab Pharmacology, Instituto Butantan.

INTRODUCTION Peptide-inactivating ability is part of normal function and development of macrophages which are also influenced by several peptides. APB and leukotriene A4 (LTA4) hydrolase (H) activities have been suggested to be exercised by a dual function enzyme in which the activation of the hydrolase part, with conversion of LTA4 into the proinflammatory compound leukotriene B4 (LTB4), results in an inhibition of the APB activity. The venom of the snake *Bothrops jararaca* (Bj) has been described to induce LTB4 production, besides to affect murine macrophage functions. The present study evaluated the presence of APB in intact macrophages obtained from the peritoneal cavities of mice after injection of thioglycollate and the effect of Bj venom on APB levels. METHODS A fluorogenic assay for APB employed L-Arg- β -naphthylamide. The viability of macrophages was performed on stained Tripzan Blue. RESULTS APB was detected only in soluble form (163 ± 37 picomoles of substrate hydrolyzed/min/mg protein) at levels comparable with those of many classes of enzymes normally considered as significant cell components. APB activity was a linear function of the time of incubation and protein content. The incubation for 60 min with up to 5 $\mu\text{g/ml}$ of venom did not alter neither viable elicited macrophage counts nor the content of soluble APB. DISCUSSION We pointed out the feasibility of using the fluorometry of naphthylamide derivatives for revealing APB in macrophages. Although our data did not provide support to the hypothesis that the LTA4H activity could be improved together with APB activity reduction, they were the first step to investigate the role of macrophage APB and its sensitivity to Bj venom. *FUNDAP/*FAPESP grant 00/10023-8

04.061

EFEITO SISTÊMICO DE DOADORES DE NO NA HIPERALGESIA DA ARTRITE POR ZYMOSAN (AZy) EM RATOS. 2Girão, VCC; 1Souza, LT; 1Carvalho, AP; 3Cunha, FC; 2Ribeiro, RA; 1Rocha, FAC. Dep. Medicina Clínica¹, Dep. Fisiologia e Farmacologia² (UFC-CE) e Farmacologia³-FMRP, USP-SP.

Introdução: Em trabalho anterior demonstramos que doadores de NO promovem analgesia de

forma terapêutica na AZy. Neste estudo, investigamos o efeito analgésico de doadores de NO (SIN-1 ou Nitroprussiato de Sódio-NPS) administrados à junta inflamada. Métodos: Ratos Wistar recebem 1 mg de Zy intra-articular no joelho direito e sacrificados 6h após. A IA foi avaliada entre 3 e 4h de AZy pelo teste de incapacitação articular (TSP em s/min). Coletou-se o lavado articular para análise do influxo celular (IC) e da liberação de nitrito (Griess- $\mu\text{mol/l}$). Grupos recebem, no joelho esquerdo, SIN-1 (10 $\mu\text{g-ia}$) ou NP (500 $\mu\text{g-ia}$) 2h após Zy. Controles (CT) receberam salina no joelho esquerdo 2h após Zy. Resultados: SIN-1 e NPS reduziram a IA ($p < 0.05$) (TSP = 23.2 ± 3.99 e 25 ± 4.2), respectivamente, comparado ao CT (TSP = 52.7 ± 3.6). SIN-1 e NPS não modificaram o IC nem a liberação de nitrito no joelho esquerdo quando comparados à salina. SIN-1 e NPS não modificaram o IC nem a liberação de nitrito no joelho direito, quando comparados à salina. Discussão: O efeito analgésico de SIN-1 e NPS na AZy independe de alteração no influxo celular e se dá provavelmente via sistema nervoso central. Apoio: CAPES, FUNCAP, CNPq.

04.062

BLOQUEIO DE PEROXINITRITO (PN) É CNDROPROTETOR NA ARTRITE POR ZYMOSAN(AZy). ¹Bezerra,MM, ³Oliveira, DN, ⁴Jerônimo,SMB, ⁴Soares,LM, ³Keeble,J, ³Brain,S, ¹Ribeiro,RA, ²Rocha,FAC. Dep.Fisio/Farmacol¹, Med. Clínica², Patologia³ (UFC), Bioquímica⁴ (UFRN), King's College, London⁵.

Introdução: Anteriormente, mostramos que o bloqueio da liberação de NO reduz a sinovite mas não inibe o dano à cartilagem na AZy. O PN, formado por combinação de NO e O_2^- , é um agente oxidante associado à lesão inflamatória, sendo detectado pela formação de 3-nitrotirosina (3NT). Investigamos o efeito do bloqueio do PN na AZy. Métodos: Ratos Wistar receberam Zy-1mg intra-articular sendo sacrificados 6h ou 14d após. A hiperalgisia foi avaliada pelo teste de incapacitação articular para ratos (TSP em s/min), entre a 3ª e 4ª h de AZy. Avaliamos: o influxo celular (IC céls/mm³) e a formação de 3NT (ELISA – pg/mg) no lavado articular, a histologia da sinovite (H&E) e quantificamos os glicosaminoglicanos (GAG) em $\mu\text{g/mg}$ cartilagem nos fêmures. Grupos receberam ácido úrico (scavenger de PN) (AU 100 ou 250mg/kg ip a cada 6h por 14d). Controles(CT) receberam salina. Resultados: AU(100 ou 250) reduziu ($p < 0.05$) a hiperalgisia (12.8 ± 1.9 e 23.2 ± 2.5), comparado ao CT(40.2 ± 7.9). AU(100 ou 250) reduziu ($p < 0.05$) a formação de 3-NT(0.41 ± 0.21 e 0.65 ± 0.42), respectivamente, comparado ao CT(2.29 ± 0.37). AU(100 ou 250) reduziu o IC(247.7 ± 45.2 e 234.3 ± 70.5), comparado ao CT(664.2 ± 157.2). AU(100 ou 250) reduziu ($p < 0.05$) a sinovite à histopatologia, comparado ao CT. AU(100 ou 250) reduziu a perda de GAG(3.1 ± 0.7 e 3.9 ± 0.9), comparado ao CT (0.8 ± 0.1). Discussão: A liberação de PN está associada à evolução e gravidade da AZy. O bloqueio da formação de PN é analgésico, antiinflamatório e protege a lesão da cartilagem articular na AZy. Apoio:FUNCAP.

04.063

ÓXIDO NÍTRICO NA DOR INFLAMATÓRIA. Kiel, C.; Arruda, A.M.S., Departamento de Farmacologia, UFPR, Curitiba, PR, Brasil.

INTRODUÇÃO: A participação do óxido nítrico (NO) na dor inflamatória não está bem esclarecida e seu papel algico ou analgésico ainda suscita discussões. Investigamos a relação entre o tempo de tratamento e observação da dor neste fenômeno. Para isso, estabelecemos uma metodologia de estudo da dor inflamatória a partir do teste da formalina (form).

MÉTODO: Ratos WISTAR machos receberam por via intraplantar (ipl) form (0,3 ou 2,5%) ou LPS (0,1 μg) e form (0,3%) e o tempo de lambida e recolhimento (LR) da pata foi observado por 40 min. Fase I de 0-5min e fase II de 20-40min.

RESULTADOS: Form induziu uma resposta nociceptiva dose-dependente (0,3; 0,6; 1,25 e 2,5%), e o tratamento com LPS 0,1 $\mu\text{g/pata}$, 3 h antes da injeção de form 0,3% aumentou significativamente (160%) o tempo de LR na fase II em relação ao controle. O tratamento com L-NAME (300 $\mu\text{g/pata}$ ipl, 15 min antes), um inibidor da NO sintase, reduziu (62%) a fase II induzida por form 2,5%, enquanto que a L-arginina (10-100 $\mu\text{g/pata}$) aumentou (96 e 115% respectivamente) a fase II induzida por form 0,3%. O tratamento com L-NAME, (300 $\mu\text{g/pata}$, 3 h e 15 min antes) potenciou ambas as fases da resposta induzida por form 0,3%.

DISCUSSÃO: Os resultados mostram que o NO pode atuar como componente algico na dor mais precoce e como analgésico na dor mais tardia, dependendo do tempo de tratamento e da intensidade do estímulo.

APOIO FINANCEIRO: CAPES

04.064

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO ÁCIDO QUINOLÍNICO E DA L-ARGININA NO TESTE DO TAIL-FLICK. Bernardi RB, Santos DE, Mallmann LP, Oppermann R, Cardoso RT, Oliveira VSS, Fernandes SF, Santos TO. Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre

Introdução: o óxido nítrico (ON) participa das vias antinociceptivas induzindo liberação pré-sináptica de glutamato que será acoplado aos receptores N-metil-D-aspartato (NMDA) pós-sinápticos. Objetivamos estudar o papel de vias nitrérgicas e glutamatérgicas na antinociceção utilizando L-arginina, substância precursora do ON, e ácido quinolínico (QUIN), metabólito endógeno do triptofano e agonista dos receptores NMDA. Métodos: ratos Wistar machos receberam, via intraperitoneal (ip), as seguintes soluções: salina 1 ml/Kg ($n = 10$); L-arginina 200 mg/Kg ($n = 10$); QUIN 300 mg/Kg ($n = 10$); L-arginina 200 mg/Kg e QUIN 300 mg/Kg ($n = 10$). A latência para retirada da cauda no teste do tail-flick foi determinada pré e 15, 30 e 60 minutos após administração das soluções. A análise estatística utilizou o teste de ANOVA 2-vias de medidas repetidas, estabelecendo $p < 0,05$. Resultados: As latências dos grupos tratados com QUIN isoladamente ou em as-

sociação com L-arginina não diferiram entre si, mas foram significativamente maiores em relação aos demais tratamentos ($F_{39:3} = 12,34$; $p < 0,001$). As latências do grupo tratado com L-arginina e solução salina não diferiram de forma significativa. O fator tempo determinou latências significativamente maiores aos 15 e 30 minutos para todos os tratamentos ($F_{39:3} = 12,05$; $p < 0,001$), não havendo interação tempo/tratamento. Conclusão: o tratamento com QUIN determinou efeito antinociceptivo significativo, não potencializado pela L-arginina.

04.065

INIBIÇÃO DO EDEMA DE PATA DE CAMUNDONGO INDUZIDO PELA INJEÇÃO DE DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO: ENVOLVIMENTO DA GUANILATO CICLASE SOLÚVEL E DE CANAIS DE POTÁSSIO. Fernandes, D.; Silva-Santos, J.E.; Assreuy, J., Departamento de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.

Introdução e Objetivos: Em trabalhos anteriores, demonstramos que a administração de doadores de óxido nítrico (NO) causa alterações de longa duração na reatividade vascular. Como a resposta inflamatória é dependente de eventos vasculares, investigou-se a influência do tratamento sistêmico com doadores de NO na inflamação. **Métodos e Resultados:** Carragenina, sulfato de dextrana, bradicinina, serotonina ou histamina foram injetados na pata de camundongos, e o edema foi avaliado por pletismografia. A injeção s.c. prévia de nitroprussiato de sódio (SNP; 1,5, 5 e 10 $\mu\text{mol/kg}$) ou S-nitroso-DL-acetil-penicilamina (SNAP; 7, 14 e 28 $\mu\text{mol/kg}$), 4, 12 ou 24 h antes do estímulo inflamatório reduziu 50% o edema de pata induzido pelos flogógenos, exceto a serotonina. O pré-tratamento com SNP reduziu o aumento da permeabilidade vascular (extravasamento de azul de Evans) e o aumento da migração de neutrófilos (medida pela atividade de mieloperoxidase), induzidos pela carragenina. A injeção de azul de metileno (15,6 $\mu\text{mol/kg}$, s.c.) ou de tetraetilamônio (300 $\mu\text{mol/kg}$, s.c.) 30 min antes ou 2, 4 ou 6 h após uma injeção de SNP (10 $\mu\text{mol/kg}$), administrado 8 h antes do estímulo inflamatório mostrou que: a) o azul de metileno bloqueou o efeito redutor do NO no edema de pata quando injetado 30 min antes ou 2 h depois do SNP, mas não 4 ou 6 h após a injeção de SNP. Já, o tetraetilamônio bloqueou o efeito redutor do NO no edema de pata em todos os tempos avaliados. **Conclusões:** O tratamento prévio com NO exerce um importante efeito anti-inflamatório de longa duração, sendo dependente de cGMP somente nas primeiras horas após a injeção de NO. Em contraste, este efeito anti-inflamatório de NO parece estar, desde a sua instalação, estreitamente relacionado com canais de K^+ . Suporte: CAPES; CNPq e PRONEX.

04.066

REVERSÃO DA "FALÊNCIA" DA MIGRAÇÃO DE NEUTRÓFILOS, MELHORA A SOBREVIDA DOS ANIMAIS SUBMETIDOS A PERITONITE. 1Torres, DD, 1Benjamim, CF, 1Cunha, FQ, 1Dpto de Farmacologia. FMRP-USP

Introdução: Os neutrófilos são as primeiras células recrutadas para o foco infeccioso abdominal participando no controle do foco séptico. O óxido nítrico (NO) participa na "falência" de migração de neutrófilos na peritonite infecciosa. O objetivo deste trabalho foi definir a relevância da falência de migração de neutrófilos na sepse induzida por ligação e perfuração do ceco (CLP) em ratos e o papel do NO nesse processo. **Método e Resultado:** Indução da sepse e avaliação da migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal após CLP. O papel do NO foi avaliado pela administração de Aminoguanidina (AG), avaliando migração e sobrevivência dos animais submetidos a sepse e diferentes tratamentos. Foi quantificado bactérias no exsudato, sangue e tecidos nos diferentes grupos experimentais. Nos animais com estímulo séptico severo (ESS), houve diminuição na migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal comparada aos animais do estímulo séptico leve. Os animais do grupo ESS tratados com AG apresentaram reversão da falência de migração de neutrófilos. A sobrevivência dos animais tratados com AG e lavagem peritoneal ou tratamento anti-microbiano, foi menor comparada ao controle. A contagem de bactérias foi menor nos animais do grupo ESS e tratados comparado ao grupo ESS controle. **Conclusões:** O NO está envolvido na inibição da migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal em ratos submetidos ao ESS. A manipulação farmacológica da migração de neutrófilos com inibidores da iNOS somados a procedimentos que ajudam a controlar o foco séptico, destaca a importância da migração de neutrófilos no controle da sepse. Apoio financeiro: CNPq e UNAB

04.067

INIBIDORES DA SINTASE DE ÓXIDO NÍTRICO POTENCIALIZAM A ADESÃO DE NEUTRÓFILOS. Dal Secco, D., Oliveira, S.H.P., Cunha, F.Q. Departamento de Farmacologia-FMRP-USP, Ribeirão Preto-SP

Introdução e Objetivo: Dados da literatura sugerem que o óxido nítrico (NO) apresenta um papel dual sobre a regulação da migração leucocitária em processos inflamatórios. Em estudos anteriores, demonstramos que o NO é um mediador inibitório da migração de neutrófilos e induz a apoptose dessas células após desafio intraperitoneal com carragenina (Cg). Com o objetivo de elucidar o mecanismo da potencialização desta migração, após a inibição da síntese do NO, investigamos a adesão dos neutrófilos ao endotélio durante o processo inflamatório induzido por carragenina.

Metodologia: Os animais foram pré-tratados, subcutaneamente, com inibidores seletivos da síntese de óxido nítrico (NOS) induzida (Aminoguanidina-50mg/kg), constitutiva (Nitro-L-Arginina-50mg/kg) ou PBS (controle), 30 minutos antes da injeção intraperitoneal de Cg (30 $\mu\text{g/cavidade}$). Após 6 horas, a adesão celular foi avaliada por microscopia intravital. **RESULTADOS:** Os animais pré-tratados com os inibidores da NOS apresentavam potencialização da adesão de neutrófilos (Nitro+Cg 1,14 células/10 μm^2 ; Amino+Cg 1,55 células/10 μm^2) em relação aos grupos não tratados (PBS 0,16 célula/10 μm^2 ; PBS+Cg 0,42 célula/10 μm^2). **Conclusão:** Sugerimos que o NO inibe a adesão

de neutrófilos ao endotélio. Visto que os que animais tratados com inibidores da síntese de óxido nítrico apresentaram potencialização da adesão leucocitária.

Apoio Financeiro: CAPES, FAPESP e FAEPA

04.068

EFEITO DO BLOQUEIO DOS CANAIS DE POTÁSSIO SOBRE A PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO EM MACRÓFAGOS. 1Paulino, N., 1Scremin, A., 2Calixto, J.B. 1.Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Biofarmacos, UNISUL, Tubarão, SC. 2. Depto de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC.

Introdução: Canais de potássio controlam o potencial de membrana de várias células, incluindo macrófagos. Nosso objetivo foi avaliar o efeito do bloqueio dos canais de potássio modulados por voltagem (Kv) e dos canais de potássio modulados por cálcio (IKCa) sobre a produção de óxido nítrico em RAW 264.7 ativados por LPS. **Métodos:** Foi avaliada a atividade do 4-AP (10 ou 100mM, bloqueador não seletivo de Kv), margatoxina (MgTx, 10 ou 100 ng/mL, bloqueador seletivo dos Kv 1.3), clotrimazole (Clo, 10 ou 100mM, bloqueador dos IKCa) sobre a produção de NO, em linhagem de células macrofágicas de murinos (RAW 264.7), estimuladas com LPS (1 $\mu\text{g/mL}$, 24 h), pelo método de Griess. Os efeitos citotóxicos destas drogas foram monitorados através da avaliação da viabilidade celular pelo ensaio do MTT. Os resultados foram expressos pela quantidade de nitrito (μM) avaliado no sobrenadante das culturas de RAW 264.7. Valores de $P < 0,05$ foram significantes.

Resultados: RAW 264.7 ativados com LPS sem tratamento apresentaram uma produção de $47,2 \pm 1,6 \mu\text{M}$ de nitrito após 24 h, enquanto o tratamento com 4-AP (10 ou 100mM) reduziu a produção para $29,7 \pm 1,4$ ou $12,3 \pm 1 \mu\text{M}$, respectivamente. MgTx (10 ou 100ng/mL) ou Clo (10 ou 100mM) não modificaram a produção de NO em células RAW 264.7. Nas concentrações *in vitro* a viabilidade celular pelo MTT foi superior a 95% nas 24 h iniciais do teste.

Discussão: Os resultados indicam que os canais de potássio Kv, mas não os Kv1.3, podem modular a ativação macrofágica em resposta ao LPS. Nossos resultados ainda sugerem que os IKCa não contribuem para esta resposta *in vitro*.

Apoio: BIOFAR-UNISUL/Prodapys.

04.069

EFEITO DE COMPOSTOS FENÓLICOS SOBRE A MIGRAÇÃO CELULAR PERITONEAL E SOBRE A PRODUÇÃO DE ÓXIDO NÍTRICO EM MACRÓFAGOS MURINOS. 1Ballmann, J.D., 1Longhi, D.T., 1Scremin, A., 2Calixto, J.B., 1Paulino, N., 1.BIOFAR, UNISUL, Tubarão, SC. 2. Depto Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC.

Introdução: A própolis é uma resina produzida pelas abelhas. O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito de compostos fenólicos presentes na própolis P1: G2, I e C sobre a migração peritoneal e produção de NO em macrófago murino. **Métodos:** Foram usados camundongos tratados com G2, I ou C (0,1, 0,01 mg/Kg, i.p.), 30 min antes da peritonite (carragenina, 1mg/mL). Após

4 h foram avaliados o total e diferencial de células e a atividade mieloperoxidase (MPO). Foi avaliada também, a atividade dos compostos (0,1 e 1 mM) sobre a produção de NO (Griess) em células RAW 264.7, ativados com LPS (1µg/mL, 24 h). E a viabilidade celular pelo MTT.

Resultados: Nas doses de 0,1, 0,01 mg/Kg i.p. os compostos inibiram a migração leucocitária em: G2 65±2,3% e 57,5±2,8%, I 61,5±2,5 e 59,6±5,7, C 50,5±1,2% e 6,5±1,1%, respectivamente, com uma CI_{50} de 0,09±1,2 mg/Kg, 0,08±0,1 e 0,25±2,6 respectivamente. Enquanto a atividade MPO foi de 0,78, 0,83 e 1,28U/mL, respectivamente para o G2, I e C (todos 0,1 mg/Kg). Em RAW 264.7, a produção de nitrito foi de 47,2±1,6µM após 24 horas, enquanto nas doses de 0,1 ou 1 mM dos compostos G2: 38,9±2,5, 13±0,9; I: 36,6±1,7, 12±1,0; ou C: 41,3±2,5, 12,1±1,2µM de nitrito no sobrenadante das culturas de RAW 264.7. Com MTT superior a 95% em 24h.

Conclusões: Nossos resultados sugerem que os compostos fenólicos presentes no extrato de própolis P1 podem reduzir a ativação celular e contribuir para explicar a atividade antiinflamatória descrita para este extrato.

Apoio: BIOFAR-UNISUL/Prodapys.

04.070

DUAL EFFECTS OF NITRIC OXIDE DONORS ON HUMAN EOSINOPHIL CHEMOTAXIS. Thomazzi, SM, De Nucci, G, Antunes, E. Dept. Pharmacology, UNICAMP, Campinas; SP; Brazil

INTRODUCTION: Human eosinophils (EO) contain a NOS functionally coupled to a cGMP transduction pathway. However, the role of cGMP on cell chemotaxis has been shown to be controversial since this second messenger can either stimulate or inhibit the leukocyte. This study was designed to examine the effects of NO donors (SNP, SIN-1, SNAP) on human EO chemotaxis and levels of intracellular cGMP. **METHODS:** Human EO were purified using a Percoll gradient and a immunomagnetic cell separator. EO chemotaxis was induced by fMLP (10-7M) and evaluated using the Boyden chamber, whereas cGMP levels were measured using an enzyme immunoassay kit (Cayman Co., USA). **RESULTS:** Two experimental approaches were carried out: 1) EO were treated with SNP, SIN-1 or SNAP (0.001-3mM each; 37°C) for 10min, after which the cells were washed and stimulated with fMLP; 2) EO were treated with NO donors (same conditions) for 30min after which the cells were stimulated with fMLP. Our results showed that incubation of EO with the NO donors (0.001-0.1mM) for 10min significantly increased the fMLP-induced chemotaxis whereas higher concentrations (1 and/or 3mM) did not affect the chemotaxis. In contrast, incubation of EO with the NO donors (0.001-3mM) for 30min markedly inhibited the fMLP-induced chemotaxis. The levels of cGMP were significantly higher in EO incubated with the NO donors for 30min as compared to 10min-incubation. The MTT assay revealed no cytotoxic effect in any of the protocols used. **DISCUSSION:** Our results suggest that stimulatory or inhibitory effects of NO donors on EO chemotaxis may reflect in part the levels of cGMP. Financial Support: FAPESP

04.071

EFFECTS OF SEVEN PARSALMIDE DERIVED MOLECULES CONTAINING A NITRIC OXIDE MOIETY ON PLATELET ACTIVATION. R.A.O. Pennachin, J. L. Donato, G. De Nucci, Dept. of Pharmacology, State University of Campinas, Campinas, SP.

Introduction and Goals: Nitric oxide is known to induce vasodilatation, inhibition of platelet aggregation and prevention of neutrophil/platelet adhesion to endothelial cells. We have studied the anti-inflammatory and anti-thrombotic activities of four potentially Nitric Oxide-donors molecules (nitrocaci 1-4). **Methods:** Blood from human healthy volunteers was collected in sodium citrate and platelet-rich plasma (PRP) obtained by centrifugation. Platelet aggregation was measured in a double-channel Chrono-log Lumi-Agregometer. PRP was incubated with Nitrocaci 1 to 4 at 37°C for 5 min prior agonist addition. Collagen (5-20µg/mL) or ADP (3-15µM) were added and aggregation monitored for 5 min. The levels of cGMP were quantified by an Elisa Kit and the results expressed as the mean \pm SEM of % inhibition. **Results:** Nitrocaci 1 to 3 showed IC_{50} higher than 1 mM and were not considered for further analysis. Nitrocaci 4 was able to inhibit both collagen (IC_{50} 347.6 \pm 57.7 µM, n=5) and ADP-induced platelet aggregation (IC_{50} 101.4 \pm 29.7 µM, n=5). cGMP synthesis, measured from PRP incubated with nitrocaci 4, was increased 4.4 fold compared to basal levels. We are also measuring the TXA_2 formation to clarify the effect of this drug on COX-1 activity.

Conclusion: Although all four drugs were synthesized based on the original parsalimide chemical structure, only nitrocaci 4 showed a measurable inhibitory effect on platelet aggregation. cGMP synthesis indicated that part of the inhibitory mechanism can be through NO release from nitrocaci 4.

Financial support: FAPESP

04.072

EFFECT OF NωNLA, AN INHIBITOR OF NO-SYNTHESE, ON THE RELEASE OF t-PA FROM AORTA OF SEPTIC RAT. Fracasso, J.F, Silva, R.F.P. and Lepera, E.Z.P. Faculdade de Ciências Farmacêuticas -UNESP.

Introduction: Kinins induce the release of plasminogen activator [t-PA] by the increased expression of endothelial constitutive NO synthase [cNOS]. The degree to which cNOS expression contribute to the vascular protective effects of NO induce t-PA release on septic shock is subject of ongoing investigation. Factors that activate t-PA like ischemic conditions, hypoxia and septic shock, increases fibrinolysis [FA].

Methods. Five groups [G] of animals were treated with saline[S] 0,9% [G I], E. coli endotoxin[EtX] Difco (3mg/kg i.v.)[GII], with NωNLA - Sigma (30 mg/Kg i.v., 30 minutes after EtX) [GIII] or S [GIV] and with L-arginine (L-arg 100 mg/Kg i.v., 10 minutes after NωNLA)[GV]. The rats were killed 30 minutes after EtX or S in GI and GII and 60 minutes after the EtX in GIII, GIV and GV. Aorta

[1 cm in length] were carefully excised from exsanguinated nembtal-anesthetized, adult male Wistar rats, rinsed and placed on the fibrin plate. FA was expressed as areas of lysis [mm²] and measured after 18 h at 26°C [n= 6 rats in each group]. Values are reported as means \pm SEM. [paired t-test].

Results and discussion: *GI = 475.6 \pm 15; *GII = 549.3 \pm 40 ; GIII=45.8 \pm 21; GIV= 40,4 \pm 18; **GV = 184.4 \pm 8. The level of t-PA released from the aorta derived from GI or GII, differs significantly from GIII and GIV **[p<0.001]. These results show that NO-induced t-PA release is important to prevent disseminate intravascular coagulation [DIC] produced by EtX. However, the overproduction of NO produce a fall in the blood pressure that is prevented by NωNLA. So, the use of NωNLA abolished the capacity of aorta to liberate t-PA and this shift the haemostatic balance in favor of a DIC . The treatment with L-arg revert partially this effect supporting the role of NO in the increase expression of t-PA **[p<0.001]. The data presented here may be helpful for the further evaluation of the role of NO in the pathogenesis of cardiovascular disease.

Supported: PADC-FCFAR

04.073

LACK OF CORRELATION BETWEEN NITROTYROSINE (NT) -MODIFIED PROTEIN EXPRESSION, SUPEROXIDE ANION (SUP) AND NITRIC OXIDE (NO) PRODUCTION IN ENDOTOXEMIC RATS. (1)Teixeira, SA, (1)Martins, ML, (2)Franco-Penteado, CF, (2)Desouza, I, (2)Antunes, E, (1)de Nucci, G and (1)Muscará, M.N. Dept. of (1)Pharmacology : ICB, USP, São Paulo - SP and (2)FCM, UNICAMP, Campinas - SP - Brazil

Introduction: In this work, we studied the relationship between the release of SUP from circulating neutrophils (NEU), NO synthase (NOS) activity and the expression of protein-NT residues in endotoxemic rats. **Methods:** Male adult Wistar rats received an i.v. injection of either E. coli lipopolysaccharide (LPS; 3 mg/kg) or saline (C). After 12 h, the animals were anesthetised with halothane and blood was collected for NEU isolation. SUP release from NEU and tissular NOS activity were measured, as well as the in vitro nitration of bovine serum albumin (BSA) by NEU and the in vivo expression of serum and tissular NT-modified proteins. **Results:** Significant rise in serum NO₃- and iNOS activity in lung and spleen was induced by LPS. SUP production by NEU was potentiated by LPS (173 \pm 17 vs. 430 \pm 32 pmol/min/10(6) cell; p<0.001). NEU iNOS activity was induced by LPS from n.d. levels to 28.5 \pm 7.7 pmol/min/mg. NT-protein expression in serum, brain, lung and spleen from LPS rats was similar to that present in C rats; also, BSA was similarly nitrated in vitro by NEU from either group. **Conclusion:** Enhanced SUP and NO production during endotoxemia do not seem to directly correlate with NT-modified proteins. Supported by FAPESP (95/09699-7, 97/12239-30, 01/08931-6).

04.074

PARTICIPAÇÃO DO ÓXIDO NÍTRICO (NO) NA LESÃO PULMONAR CAUSADA PELA ISQUEMIA/REPERFUSÃO-INTESTINAL (I/R-i). Cavriani, G.1.; Oliveira-Filho, R.M.1.; Arruda, M.J.C.3; Jancar, S.2; Tavares de Lima, W.1 Deptos. de Farmacol.1 e 2Imunol.; ICB, 3HU, USP São Paulo-Brasil.

Introdução. Evidências indicam a geração de NO no trauma causado pela I/R-i, entretanto, seus efeitos moduladores ainda não foram esclarecidos. No presente estudo avaliamos o papel do NO na inflamação pulmonar desencadeada pela I/R-i. Métodos. Ratos (Wistar) foram expostos à oclusão da artéria mesentérica superior (45min) e reperusão (2h). A inflamação pulmonar foi avaliada através da atividade pulmonar de mieloperoxidase (MPO), leucócitos circulantes (LC), lavado da artéria pulmonar (LAP) e permeabilidade vascular (PV). Os ratos foram tratados com L-NAME ou dexametasona (Dexa). Como controle utilizamos ratos falso-operados (FO) ou I/R-i não tratados (NT). Resultados. A I/R-i exacerba a MPO em relação ao FO. O tratamento com L-NAME (0.78±0.2) aumenta a MPO em relação ao NT (0.42±0.04), e não com Dexa. O número de LC aumentou 90% em relação ao FO. A I/R-i aumenta o número de células no LAP em relação ao FO (32.6±2.9 vs 14.8±2.9 x 105/ml). O tratamento com Dexa (23.3±1.7 x 105/ml) mas não com L-NAME, reduz o LAP em relação ao NT (32.6±2.9 x 105/ml). A I/R-i aumenta a PV no parênquima (152%) em relação ao FO. O tratamento com L-NAME em relação ao NT (175.6±20.9 vs 93.5±9.3 µg AE) exacerba a PV, mas não o tratamento com Dexa. Conclusão. Sugere-se um balanço funcional entre as isoformas de NOS, a qual altera-se durante a I/R-i. A redução da atividade da NOS substitutiva está associada à regulação da intensidade da lesão pulmonar. Apoio financeiro. CAPES, CNPq, FAPESP (99/06210-8)

04.075

PRODUÇÃO DE NO E QUINIOCINAS POR CÉLULAS MESOTELIAIS PLEURAIS ESTIMULADAS COM BCG E COMPONENTES BACTERIAIS. Candéa, A.L.P.; Pizoeiro, B.A. F. S., Pessolani, M.C.V., Menezes-Lima-Júnior, O., Souza M.C., M.G.M.O Henriques. Lab. Farmacologia Aplicada, Far-Manguinhos, FIOCRUZ-RJ.

Introdução: Tem sido sugerida a participação de células mesoteliais na inflamação pleural presente em infecção por bactérias gram negativas ou micobactérias, induzindo a produção de quimiocinas e outros mediadores. A Lipoarabinomana (LAM) é um componente da parede de micobactérias, capaz de induzir em diferentes tipos celulares, a liberação de quimiocinas e citocinas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a produção de Eotaxina, IL-8 murina (KC) e NO, após estimulação com LPS, LAM e Mycobacterium bovis (BCG). Métodos: Células mesoteliais foram coletadas da pleura de camundongos Black/6 e cultivadas durante 15 dias sendo posteriormente pla-

queadas (4x10⁵ células por poço) e estimuladas por LPS (100ng/ml; 1µg/ml), LAM (100ng/ml; 1µg/ml) e IFN-g (500 U/ml) por até 72h. A estimulação por BCG foi feita com a adição de 10⁶ UFC de BCG por poço. O sobrenadante foi recolhido para a análise da produção de NO, Eotaxina e KC. Resultados: Não observamos variação significativa na liberação de Eotaxina. Verificamos um aumento significativo da liberação de KC induzida pelo LPS em 72h (de 0.31 + 0.21 para 11.08 + 1.98 pg/ml) ou por BCG em 48h (de 0.13 + 0.07 para 13.06 + 0.58pg/ml). E ainda o aumento da produção de NO induzido pela LAM 1µg/ml (de 0.2 + 0.4 para 2.4 + 0.19nM) em 72h. Nossos resultados indicam que células mesoteliais murinas contribuem, através da liberação de NO e quimiocinas para a regulação de reações inflamações pleurais decorrentes de infecções bacterianas. CNPq

04.076

ENVOLVIMENTO DA IL-10 E DO ÓXIDO NÍTRICO NA TOLERÂNCIA PIROGÊNICA INDUZIDA POR LPS. ¹Ferreira, M.E.S., ²Coelho, M.M., ¹Pelá, I.R. ¹Dep. de Física e Química – Lab. Farmacologia, FCFRP/USP, ²Faculdade de Farmácia/UFGM, Belo Horizonte, MG – Brasil.

Objetivo: Os mecanismos envolvidos na tolerância pirogênica não estão completamente elucidados. Resultados anteriores obtidos em nosso laboratório, sugerem o envolvimento do óxido nítrico (NO) na tolerância pirogênica. Além disso, foi verificado que a galactosamina (GAL), droga hepatotóxica, foi capaz de reverter a tolerância pirogênica. Com base nestes resultados, o presente estudo teve como objetivo verificar se os efeitos do L-NAME (inibidor não seletivo da NO synthase) sobre a tolerância pirogênica seriam revertidos pela administração de L-arginina (substrato para a NO synthase), além de verificar se a administração de GAL seria capaz de alterar as concentrações plasmáticas de IL-10 (citocina envolvida no controle de diferentes aspectos da resposta inflamatória).

Métodos e resultados: Foram utilizados ratos machos Wistar (180-200g). A temperatura colônica foi determinada com o auxílio de um termômetro elétrico e a concentração plasmática de IL-10 foi determinada por ELISA. A administração de L-arginina (500mg/kg,ip) 15 minutos antes da primeira e da segunda administração de LPS (100 µg/kg,ip) foi capaz de reverter o efeito do L-NAME (50mg/kg,ip) sobre a tolerância pirogênica. A administração de GAL (300mg/kg,ip) concomitante ao primeiro estímulo com LPS foi capaz de reduzir as concentrações plasmáticas de IL-10 induzida pelo LPS 1hora após a administração deste estímulo (SAL/LPS=0.96±0.15 e GAL/LPS=0.44±0.06) e aumentar as concentrações de IL-10, 1hora após a segunda administração de LPS (SAL/LPS + LPS=0.23±0.07 e GAL/LPS + LPS=1.02±0.23).

Conclusão: Estes resultados dão suporte à participação do NO na tolerância pirogênica, além de sugerir que a IL-10 parece ser importante no desenvolvimento deste fenômeno.

Apoio Financeiro: FAPESP

04.077

ALTERATIONS IN THE PRODUCTION OF NO AND SUPEROXIDE ANION IN RESPONSE TO LPS IN ANIMALS UNDERNOURISHED DURING LACTATION. Silva, S.V.; Souza, E.G; Rodrigues, A.L; Oliveira, C.C; Moura, A.S., Freitas, M.S; Barja-Fidalgo, C. Depto de Farmacologia, IBRAG /UERJ

We have been investigating the influence of early postnatal maternal malnutrition on the development of innate immune response in adult progeny. We have demonstrated that these animals presented permanent alterations on insulin and glucocorticoid secretion, leading to inhibitory effects on the development of inflammation (lower neutrophil migration and adhesion proteins expression). Herein, we evaluate the response to LPS of adult rats, offspring of dams fed with diets containing 0% (UNgroup) or 22% protein (Cgroup) during the first 10 days of lactation. Methods: C and UN adult rats were treated with LPS (500µg/kg). After 4h we analyzed the number of circulating neutrophils (PMN), plasmatic nitrate levels (NOx) and the production of superoxide anions (O⁻²) and expression of iNOS in PMN Results: LPS-treated UN rats showed lower number of blood PMN (C=12.24±2.94; UN=7.01±1.62). Plasma NOx was increased after LPS treatment in UN (C:2±0.1; UN=:19.2±4.9). After stimulation with PMA, O⁻² production by PMN from UN-rats was several fold higher than in C rats (C:1.84±0.36; UN:6.07±1.12). Expression of iNOS in PMN of animals from both groups treated with LPS was detected 12 h after treatment. However an earlier iNOS expression was only detected in PMN from UN, but not from C animals, 4 h after LPS treatment. Conclusion: These results corroborate our earlier data showing that a metabolic imprinting imposed by maternal malnutrition in early life secondarily affects the innate immune response of progeny (CNPQ; FAPERJ; SR2-UERJ)

04.078

ESTUDO DO PAPEL DOS DOADORES DE ÓXIDO NÍTRICO NA DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL. Leitão, R.F.C., Chaves, H.V., Lima, V., Ribeiro, R. de A., Brito, G.C. Deptos Fisiologia e Farmacologia, Morfologia-UFC

Introdução: A doença periodontal (DP), inflamação das estruturas de suporte dos dentes, é a causa mais frequente de perdas dentárias em humanos. As citocinas, mediadores envolvidos na patogênese da DP, são indutoras da síntese de óxido nítrico (NO), molécula vital em processos inflamatórios e no metabolismo ósseo. Havíamos demonstrado que L-NAME e aminoguanidina inibiam a reabsorção óssea induzida por corpo estranho em ratos, sendo o efeito do L-NAME revertido pela L-arginina, mas não pela D-arginina. Objetivo do presente estudo foi investigar o papel de um gel contendo doadores de NO na doença periodontal experimental (DPE) em ratos Wistar.

Métodos: A DPE foi induzida pela inserção de

um fio de náilon em torno do 2º molar superior esquerdo. Os doadores de NO, SNAP (gel a 1%; 2x ao dia) e isossorbida (ISB) (gel a 1 e 5%, 2x ao dia) foram aplicados localmente 1h antes da passagem do fio, e diariamente, a cada 12h, por 11 dias. Os animais foram sacrificados no 110 dia, e os parâmetros avaliados foram: reabsorção óssea, através do índice de perda óssea (IPO); análise histopatológica e leucogramas realizados ante após a cirurgia (6h e 1,7 e 11 dias) Resultados: ISB 5% reduziu em 22% o IPO (confirmado por histopatologia), além de reduzir a leucocitose no 11º dia, às custas de mononucleares. SNAP 1% exacerbaram a reabsorção óssea em 39% e 26%, respectivamente (confirmado por histopatologia). Discussão: A aplicação tópica de doares do NO em altas concentrações previne a perda óssea induzida pela DPE. Esses dados poderão servir de base para posterior estudo clínico o efeito do gel contendo doares de NO. Apoio: CNPq

04.079

ROLE OF INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE IN GASTRIC DAMAGE AND MUCOSAL NEUTROPHIL INFILTRATION INDUCED BY INDOMETHACIN. Souza, MHL P; Oliveira, RB 1; Lemos, HP 1; Cunha, FQ 2 - 1 Divisão de Gastroenterologia, Departamento de Clínica Médica; 2 Departamento de Farmacologia - FMRP-USP, Ribeirão Preto- SP

Background: Gastric damage (GD) induced by NSAIDs is a neutrophil-dependent process. Although NO reduces the adherence of leukocytes to the vascular endothelium, we proved that NOS inhibitors impair GD induced by indomethacin (INDO). We used iNOS(-/-) mice and rats treated with an iNOS inhibitor to investigate whether iNOS-generated NO is involved in the control of INDO-induced mucosal neutrophil infiltration (NM) and GD. Methods: GD in the wild-type (iNOS+/+) and knockout (iNOS-/-) C57BL6 mice were induced by intragastric instillation of INDO and measured by lesion index (LI). Groups of rats received fucoidan (25mg/Kg), aminoguanidine (100mg/Kg) and after 1 hour GD was induced by INDO (20mg/Kg); 3 hours later NOx (Griess method) and NM was determined in mucosal fragments (MPO). Results: INDO caused a dose and time dependent GD in wild-type C57BL6 mice (10mg/Kg; 12 h; $p < 0.01$). iNOS-/- GD by INDO was fewer as compared with iNOS+/+ mice (LI iNOS-/- = 6.1 ± 2.7 mm; LI iNOS+/+ = 29.8 ± 9.0 mm; $p < 0.01$). In INDO-induced GD in rats: 1) aminoguanidine (LI = 18.3 ± 5.3 mm; NOx = 1.3 ± 0.4 nmol; NM = 878.1 ± 226.4 neut/5mg) significantly reduced GD and NOx levels in gastric contents (controls: LI = 41.1 ± 4.1 mm; NOx = 3.6 ± 1.1 nmol, $p < 0.05$), and increased the NM (control: 442.1 ± 26.7 neut/5mg, $p < 0.01$); 2) Fucoidan (LI = 2.8 ± 0.9 mm; 244.6 ± 55.2 neut/mg; $p < 0.01$) inhibited significantly the GD and NM (controls: LI = 59.2 ± 16.6 mm; NM = 531.2 ± 75.4 neut/mg). Conclusion: These results suggest that NO released by neutrophil iNOS mediate the GD induced by INDO. Support: FAPESP, PRONEX

04.080

PAPEL DOS NEURONIOS NITRÉRGICOS CENTRAIS NA HIPERREFLEXIA MICCIONAL. P. LAGOS e G. BALLEJO. Depto Farmacologia, FMRP-USP.

Introdução. Neurônios nitrérgicos espinais e supraespinais participam na instalação e manutenção da hiperalgesia visceral. Métodos. Determinou-se o efeito de inibidores da síntese de óxido nítrico (SON) sobre o volume limiar de micção (VL) e sobre as contrações neurogênicas de tiras de bexiga (órgão isolado) de ratas (Wistar 200-250g) injetadas com salina (C) ou ciclofosfamida (CF, 100 mg/kg, i.p.) 4 ou 18 horas antes. Também foram quantificados os neurônios nitrérgicos e c-FOS(+) dos segmentos espinais L6-S2 e a atividade da SON em L6-S2 e tronco encefálico. Resultados. Observou-se hiperreflexia miccional, VL diminuiu de 0.67 ± 0.24 mL para 0.19 ± 0.09 e 0.31 ± 0.07 mL as 4 (CF4) e 18 (CF18) h, após CF. L-NAME (10mg/kg e.v.) não alterou o VL de C mas aumentou significativamente o dos CF4 (0.32 ± 0.06) e CF18 (0.44 ± 0.12 mL). L-NAME (1 e 3 μ moles) e L-SMTC (1 μ mol), mas não D-NAME (3 μ moles), intratecal aumentaram o VL dos animais CF4 mas não o dos CF18 nem dos C. Nos animais CF4 e CF8 a atividade Ca²⁺ dependente da SON foi significativamente maior nos segmentos L6-S2 porém no tronco encefálico só aumentou nos CF18. Nos segmentos L6-S2 o N° de neurônios nitrérgicos e de neurônios c-FOS(+) foi similar nos animais C e CF4 mas foi maior nos CF18. A magnitude das contrações neurogênicas do detrusor foi menor nos animais CF4 e CF18; L-NOARG aumentou a magnitude dessas contrações só nos CF18. Discussão. Neurônios nitrérgicos espinais e supraespinais participam diferentemente na hiperreflexia miccional observada 4h ou 18h após CF e apresentam maior atividade da SON. O NO também contribui para a hiporeatividade do detrusor associada à cistite. Apoio: CAPES, PRONEX, CNPq.

04.081

EX VIVO AND IN VITRO INHIBITION OF COX 1 BY NEW NSAIDS. RA Pennachin, R Lorenzetti, LE Couto, R Pereira, JL Donato, G De Nucci. Department of Pharmacology, UNICAMP, Campinas, SP

Introduction: Cyclooxygenases (COX) catalyze the oxygenation of arachidonic acid to prostaglandin PGH₂, precursor for the synthesis of PGs, prostacyclins, and thromboxanes. NSAIDs inhibit COX. We have studied the anti-inflammatory activity of molecules (C7, C10 and C31) through the evaluation of ex vivo and in vitro inhibition of COX1. Methods: Blood from human volunteers were collected and platelet-rich plasma (PRP) obtained by centrifugation. Platelet aggregation was measured in an aggregometer. PRP was incubated with the molecules at 37°C for 5 min prior to collagen addition and aggregation monitored for 5 min. In the ex vivo assay, male wistar rats were anaesthetized and the molecules (50mg/Kg, dimethyl sulfoxide 75%) were administered orally. Acetyl salicylic acid was used as positive control. We collected blood from abdominal aorta after 1 or 3 h. The TXB₂ level was measured in both sam-

ples, platelet aggregation and ex vivo assay by Elisa Kit. Results: C7, C10 and C31 showed IC₅₀ 48.1, 16.0 and 75 μ M, respectively, in the inhibition of platelet aggregation. In vitro, the inhibition of TXA₂ synthesis caused by C10 and C31 were 93.0% and 83.8% respectively. The inhibitions obtained at 1 h on the ex vivo assay were C7 (36.9%), C10 (59.3%) and C31 (29.5%). No significant inhibition was obtained at 3 h. Conclusions: The decreased in the TXA₂ levels and the platelet aggregation inhibition showed a possible inhibitory effect by the molecules on COX 1. The inhibition only at 1 h can be due to either a fast metabolism or a reversible inhibition of these molecules.

Financial support: FAPESP

04.082

AVALIAÇÃO DA PARTICIPAÇÃO DA CICLOOXIGENASE-1 (COX-1) EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE INFLAMAÇÃO EM CAMUNDONGOS. 1 Siqueira-Junior, J.M., 2 Peters, R.R., 3 Brum-Fernandes, A.J., Ribeiro-do-Valle, R.M. 1 Depto de Farmacologia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC. 2 GRUPNAT, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão-SC. 3 Departments of Pharmacology and Medicine (Rheumatic Disease Unit), Faculty of Medicine, Université de Sherbrooke, Canada. jarbasms@bol.com.br

INTRODUÇÃO: Está descrito na literatura, que a COX-1 participa em processos fisiológicos, como citoproteção gástrica e que COX-2 teria participação na evolução processo inflamatório. Neste trabalho, procurou-se avaliar através do inibidor seletivo e irreversível de COX-1, Valeryl Salicylate (VS), a participação dessa enzima em modelos de edema de pata (EP) e edema de orelha (EO) em camundongos. MÉTODOS: O EO foi induzido pela administração tópica de ácido araquidônico (A.A.; 2mg/orelha) ou Óleo de cróton (O.C.; 1 mg/orelha). O EP foi induzido pela injeção intraplantar (i.pl.) de 0,020 mL de carragenina (CAR, 1%), sendo observados dois picos: em 2 hs (fase inicial) e em 48 hs (fase tardia) após a injeção da CAR. RESULTADOS: No EO induzido por A.A. (1h após indução) o pré-tratamento (1h) com VS (1,5, 4,5, 15 e 45 microg/orelha) reduziu significativamente em 28,1, 36,3, 40 e 57,8% (controle = 423.6 ± 14.1 microm). No EO induzido por O.C. (6h após indução) o pré-tratamento (1h) com VS na dose de 45 microg/orelha reduziu o edema em 35,9% (controle = 366.6 ± 20.6 microm). No EP, em 2 hs após CAR, o pré-tratamento intraperitoneal (i.p., 30 min) com VS (3, 10 e 30 mg/kg) reduziu 43,3, 53,3 e 66,6% (controle = $0,075 \pm 0,004$ mL) e no pré-tratamento i.pl. (1h) com VS as doses de 4,5, 15 e 45 microg/pata reduziram significativamente em 42, 48 e 45% (controle = $0,0660 \pm 0,0087$) respectivamente, não promovendo redução do edema em 24 hs. Entretanto em 48 hs após CAR, nos mesmos animais, houve um aumento significativo do edema quando comparado ao controle. DISCUSSÃO: Os resultados sugerem que a COX-1 possui importante papel no processo inflamatório agudo. Além disso, a inibição pré-emptiva de COX-1, pode, pelo menos em parte, comprometer a resolução do processo de edema. Apoio: CNPq.

04.083

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIPLAQUETÁRIA DE NOVOS DERIVADOS N-ACILIDRAZÔNICOS IMIDAZÓLICOS. Tributino, J.L.M.*#; Cunha, A.C.*; Fraga, C.A.M.*; Barreiro, E.J.*; Miranda, A.L.P.*; *LASSBio, Dep. de Fârmacos, Fac. de Farmácia, UFRJ, RJ, Brasil; # Dep. de Farmacologia Básica e Clínica, ICB, UFRJ.

Introdução: Visando a obtenção de novos protótipos capazes de atuar na cascata do Ácido Araquidônico (AA), foi sintetizada uma nova série de compostos N-acilidrazônicos imidazólicos planejados como inibidores duais de COX/5-LO. Estudos anteriores descrevem as atividades analgésica e antiinflamatória destes compostos (Tributino et al., ALF 2000, p.310, P.17.042). O objetivo do presente trabalho foi a avaliação do perfil antiplaquetário desta série, considerando a importância do núcleo imidazólico para esta atividade (Lizuka et al, J. Med. Chem. 24:1139, 1981). Métodos: A agregação plaquetária (AP) foi estudada in vitro em plasma rico em plaquetas citratado (PRP) de coelhos induzida por AA(200 μ M), Colágeno (5 μ g/ml), ADP(5 μ M) e U-46619(3 μ M). A formação de TXB2 foi dosada por EIA, em sobrenadantes de plaquetas lavadas estimuladas por colágeno. Resultados e Discussão: Todos os compostos, a 100 μ M, inibiram a AP induzida por AA e Colágeno em 90-100% (n=3,*p<0,05), sem intervir na agregação induzida por ADP e U-46619, evidenciando um relevante perfil antiplaquetário para a série. A IC50 dos compostos LASSBio 691 (W=Furano, Y=CH3) e LASSBio 692 (W=Tiofeno, Y=CH3) foi de 52,3 μ M e 27,2 μ M, respectivamente, na AP induzida por colágeno. Estudos preliminares in vitro indicam uma inibição significativa da produção de TXB2. A inibição da agregação induzida por AA e o colágeno, juntamente com a inibição de TXB2 in vitro sugerem um possível mecanismo de ação na cascata do AA, sobre COX-1 ou Tromboxana Sintase. Agradecimentos: CAPES, CNPq, FUJB, PRONEX.

04.084

ESTUDO DA ATIVIDADE ANTIAGREGANTE PLAQUETÁRIA DO COMPOSTO TIENILACILIDRAZONA, LASSBio 294. Brito, F. C. F1,2.; Meireis, C. M1.; Lima, P. C.1; Fraga, C. A. M.1; Barreiro, E. J1.; Miranda, A. L. P.1,2 LASSBio1, Faculdade de Farmácia, Depto. de Fârmacos, Depto. de Farmacologia Básica e Clínica2, UFRJ.

Introdução: O composto LASSBio 294 (Lima et. al, 35: 187, 2000) foi obtido como parte de um programa que visa o planejamento, a síntese e a avaliação farmacológica de novos compostos bioativos. Esse composto possuindo como farmacóforo a função N-acilidrazônica, apresentou propriedades ionotrópicas positivas em músculo esquelético e cardíaco (Gonzalez-Serrato et al., 299: 558, 2001; Sudo et al., 134: 603, 2001), além de induzir vasorelaxamento (Noël et. al, 135: 293, 2002). Neste trabalho objetivamos a avaliação da atividade antiagregante plaquetária (AAP) desse derivado, tendo em vista sua relação bioisostérica com compostos piridazinônicos

(inibidores da fosfodiesterase) e N-acilidrazônicos (ativos na cascata do ácido araquidônico) (Barreiro et. al, 25: 129, 2002). Métodos: A AAP foi avaliada in vitro em plasma rico em plaquetas citratado de coelhos, induzida por ADP (5mM), colágeno (5mg/mL), AA (200mM) e trombina (0,02U/mL). Foram estudados os efeitos sobre a reação de secreção de ATP (Luciferina-luciferase) e sobre a formação de TXB2 (EIA). Resultados: Esse composto inibiu a agregação plaquetária induzida pelo colágeno e pelo AA apresentando uma IC50 de 32,4mM* (*p< 0,05) para ambos os agonistas. A reação de secreção de ATP induzida por AA, colágeno e trombina foi inibida em cerca de 95%, assim como foi inibida a formação de TXB2. Conclusão: Os resultados sugerem uma possível ação para o composto LASSBio 294, ao nível da CAA, se apresentando como um potente inibidor da agregação plaquetária, o que poderia contribuir para seu uso no sistema cardiovascular. Apoio Financeiro: PRONEX, CAPES, FUJB, CNPq

04.085

ATIVIDADE ANTIAGREGANTE PLAQUETÁRIA DE NOVOS DERIVADOS 4-ACIL-5-METIL-IMIDAZOLILACILIDRAZONO. Pinheiro, C. S1.; Brito, F. C. F1,2.; Figueiredo, J. M.1; Câmara, C. A1.; Fraga, C. A. M.1; Barreiro, E. J.1; Miranda, A. L. P.1,2. LASSBio1, Faculdade de Farmácia, Depto. de Fârmacos, Depto. de Farmacologia Básica e Clínica2, UFRJ.

Introdução: No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o planejamento, a síntese e a avaliação farmacológica de novos derivados bioativos, uma nova série de derivados imidazolilacilidrazono foi sintetizada e farmacologicamente avaliada. Estudos anteriores demonstraram uma potente atividade analgésica e antiinflamatória para esses derivados (Figueiredo et. al, 8: 243, 2000). Considerando-se a presença do grupamento imidazólico, relevante para a atividade inibitória da tromboxana sintase (TXS) (lizuka et. al, 24: 1139, 1981) e a ação sugerida para esses compostos ao nível da cascata do ácido araquidônico (CAA), o objetivo desse trabalho foi o estudo da atividade antiagregante plaquetária (AAP) desses compostos. Métodos: A AAP foi avaliada in vitro em plasma rico em plaquetas citratado de coelhos, induzida por ADP (5mM), colágeno (5mg/mL) e AA (200mM). Os compostos foram avaliados nas concentrações de 100mM e 300mM (DMSO). Resultados: Dentre os compostos avaliados, somente o derivado não-substituído, LASSBio 348, na concentração de 300mM, foi capaz de inibir em 100,0% a AP induzida por colágeno e AA (*p< 0,05, n=5) Conclusão: A AAP observada apenas para o composto não substituído, demonstra que as modificações realizadas nesse padrão molecular não favoreceram a AAP, já descrita para o núcleo imidazólico. Por outro lado, o planejamento racional permitiu evidenciar compostos com potente atividade analgésica e antiinflamatória. Esses resultados sugerem que as modificações no núcleo imidazólico desta série, estariam favorecendo uma atividade ao nível da ciclooxigenase e não da TXS. Apoio Financeiro: PRONEX, CAPES, FUJB, CNPq

04.086

UM MODELO PARA ESTUDO DA IONTOFORESE DE ANTIINFLAMATÓRIOS EM RATOS. Motta2, A..F., Borges2 Jr., N.G., Da-Fonseca2, J.C.P., Tonussi1, C.R. 1Depto. de Farmacologia, UFSC e 2Depto. de prevenção, avaliação e reabilitação física, CEFID-UDESC, Florianópolis, SC.

Introdução. A iontoforese transdermal de antiinflamatórios resulta em absorção maior e mais rápida do que a difusão passiva. Não se sabe se este método pode entregar o fármaco diretamente em tecidos profundos ou se os efeitos terapêuticos só ocorrem após distribuição sistêmica. Neste estudo avaliou-se o efeito da aplicação iontoforética de diclofenaco sobre a nocicepção articular inflamatória em ratos. Métodos. Ratos wistar machos (200-250 g) receberam injeção de carragenina (300 ug) e endotoxina de E. coli (LPS, 1 ug) na articulação do joelho. Após a injeção de LPS, a nocicepção articular foi avaliada a cada hora por meio do registro do tempo de elevação da pata (TEP) durante períodos de deambulação forçada de 60 s. TEP máximo aparece 1 hora após o LPS, mantendo-se por mais de 8 h. Para a iontoforese, posicionou-se os dois pólos de um gerador de corrente sobre os aspectos medial e lateral da articulação inflamada. No polo negativo foi colocado gel de PVP/HMC contendo 1% de diclofenaco e no polo positivo, solução salina fisiológica. Resultados. Iontoforese de diclofenaco a 0,1, 0,2 e 0,3 mA/cm2 por 10 min, 1 hora após o LPS, reverteu de forma corrente-dependente a incapacitação (P<0.0001, F3,5=20.84). O delta-TEP4h (TEP4h-TEP1h) foi respectivamente de -12,6 \pm 2,6 s, -26,4 \pm 4,8 s e -32,0 \pm 0,9 s (controle sem droga = -3,1 \pm 1,7 s). A iontoforese no joelho contra-lateral (0,25 mA/cm2 por 10 min) reverteu menos a incapacitação do que quando aplicada sobre a articulação inflamada (P<0.05, t=2.041, gl=5). Conclusões. O modelo de incapacitação articular foi eficiente para se demonstrar o efeito antinociceptivo da aplicação iontoforética de diclofenac. Parte desse efeito parece ser por entrega direta da droga na articulação. Apoio: CNPq.

04.087

ATIVIDADE ANTIPIRÉTICA DO IBUPROFENO EM RATOS. Cristofoletti, R., Penatti, R.C., Soares, D.M., Souza, G.E.P. Lab. Farmacologia, FCFRP-USP-Ribeirão Preto, SP

Objetivo: O ibuprofeno e a indometacina, inibidores das ciclooxigenases (COX)-1 e 2 não inibem a febre induzida pelas quimionas, duplo MIP-1 e IL-8 em coelhos¹ e ratos², respectivamente. Ainda, a indometacina não modifica a febre induzida por PPF³. Neste estudo investigamos o efeito antipirético do ibuprofeno sobre as febres sensíveis (induzidas por LPS e IL-1 β) e insensíveis (induzidas por PPF, MIP-1 α) à indometacina. Métodos e Resultados: Monitorou-se a variação da temperatura retal (Δ Tr) de ratos machos Wistar (200g) tratados com ibuprofeno (10mg/Kg) oral ou ip 30 min antes da injeção de LPS (5 μ g/Kg, iv), PPF (60 μ g, iv), IL-1 β (3.12 ng, icv) e MIP-1 α (500 pg, icv). O ibuprofeno inibiu a res-

posta febril induzida por pirogênicos sensíveis e insensíveis à indometacina.

Efeito do Ibuprofeno sobre a febre induzida por diferentes estímulos pirogênicos na 2,5ª h (P<0,01)

Estímulo	Tratamento	ΔT _r (°C)	n
LPS	Salina	1,22 ± 0,29	5
LPS	Ibu (vo)	0,25 ± 0,14*	5
PFPF	Salina	1,00 ± 0,16	6
PFPF	Ibu (vo)	0,25 ± 0,11*	6
IL-1β	Salina	0,90 ± 0,24	6
IL-1β	Ibu (ip)	0,16 ± 0,09*	6
MIP-1α	Salina	0,58 ± 0,15	6
MIP-1α	Ibu (ip)	-0,14 ± 0,06*	6

Conclusão: Febres sensíveis e insensíveis à indometacina foram totalmente bloqueadas por ibuprofeno, sugerindo diferentes mecanismos antipiréticos para estas drogas. Portanto, além da inibição das COX-1 e -2, o ibuprofeno parece exercer seus efeitos antipiréticos através de outros mecanismos, entre eles a inibição da translocação do fator transcricional NFκB¹.

¹Science, 243:1066, 1989; ²Am. J. Physiol., 266:R1670, 1994; ³Inflam. Res. 49:473, 2000; ⁴BiochemPharmacol, 57:313, 1999. Apoio: FAPESP

04.088

EVALUATION OF COX INHIBITION BY TWO DICLOFENAC FORMULATIONS IN HEALTH VOLUNTEERS. ¹RA Pennachin, ¹HS Cardoso, ¹R Lorenzetti, ¹GD Mendes, ²MN Muscará, ¹JL Donato, ¹G De Nucci, ¹Department of Pharmacology, UNICAMP, Campinas (SP) and ²Department of Pharmacology, USP, Sao Paulo (SP), Brazil.

Introduction: This work aimed to correlate the quantification of diclofenac levels with COX-1 and COX-2 inhibition in human plasma from healthy volunteers. Methods: Diclofenac was extracted from acidified human plasma and analyzed by reversed-phase chromatography and mass spectrometry following detection by multiple reaction monitoring. This method was employed in the quantification study of two retard release diclofenac formulations in 24 healthy volunteers of both sexes who received a single 100 mg dose of each formulation. The study was conducted using an open, randomized, two-period crossover design with a seven-day washout interval. The COX inhibition by diclofenac was measured using COX (ovine) Inhibitor EIA kit-Cayman Chemical. Results and Conclusion: The inhibition of COX 1 and 2 compared to the results obtained with plasma concentration of diclofenac demonstrated that the profile of COX inhibition is similar to diclofenac concentration. After 8 h, even with no plasma concentration of diclofenac was observed a COX inhibition of approximately 25%. The COX 1 inhibition is bigger than COX 2 inhibition. The reason of this persistent COX inhibition is under investigation.

Financial support: Novartis Biociências S.A.

04.089

ENALAPRIL INTERFERE COM O EFEITO ANTIINFLAMATÓRIO DO DICLOFENACO NOS LEUCÓCITOS DE RATOS HIPERTENSOS. L.L. Martinez, MA Oliveira, AS Miguel, JWMC Cruz, RCAT Passaglia, MHC Carvalho, D Nigro, ZB Fortes. Depto de Farmacologia, ICB, USP-SP.

Introdução: O uso simultâneo de antiinflamatórios e antihipertensivos é freqüente em geriatria e pode levar a perda do controle antihipertensivo, sendo importante o estudo da interferência dessa associação no efeito do antiinflamatório. Métodos: Ratos hipertensos (SHR) foram tratados com diclofenaco (D), losartan (L), enalapril (E) ou com as associações D+L e D+E. Leucócitos que rolam (número de rollers em 10min) ou migram (número de migradas em 2500µm² após TNF-α), bem como, o diâmetro de vênulas (DV µm) foram estudados usando microscopia intravital. Foram determinados a taxa de atrito venular (TAV S⁻¹), utilizando-se velocímetro óptico; o leucograma (mm³) e a expressão de L-selectina e CD11-CD18 em leucócitos, por citometria de fluxo (intensidade de fluorescência), e ICAM-1 no endotélio, por imunohistoquímica (densidade de fluorescência). A pressão arterial (mmHg) foi determinada por pletismografia de cauda (PA indireta) e canulação da carótida (PA direta). Resultados: O D aumentou a PA dos SHR, enquanto que o L, o E e as associações D+L e D+E reduziram a PA (tabela). Os rollers foram reduzidos por D, L e D+L, o mesmo não ocorrendo nos tratamentos com E ou D+E (tabela). Todos os tratamentos reduziram a migração leucocitária e a expressão de ICAM-1 no endotélio (tabela). Nenhum dos tratamentos aumentou a TAV ou alterou o DV, o leucograma e a expressão de L-selectina ou CD11-CD18 em leucócitos (tabela) Conclusão: O D não interferiu com o efeito antihipertensivo do E ou do L, porém o E reduziu o efeito antiinflamatório do D sobre os rollers, mas não sobre a migração. Alteração da TAV, do leucograma, da expressão de L-selectina ou CD11-CD18 nos leucócitos não pode explicar os resultados encontrados. A redução da migração após todos os tratamentos envolveu a redução de ICAM-1 no endotélio Apoio Financeiro: FAPESP-PRONEX (*p<0,05xsalina média±epm).

	Salina	Diclofenaco	Enalapril
PA indireta	167,9±3,5 n=30	187,0±2,9* n=27	149,2±4,2* n=17
PA direta	100% n=8	+ 3,8% n=8	-13,9% n=11
Rollers	116,5±9,3 n=8	25,4±3,8* n=8	89,5±7,8 n=9
Migradas	9,2±0,6 n=9	4,7±0,3* n=9	6,1±0,4* n=9
Leucograma	7500,0±594,1 n=5	7970,0±717,3 n=5	8250,0±1233 n=5
DV	15,9±0,3 n=28	15,9±0,3 n=25	16,4±0,4 n=23
TAV	281,6±16,7 n=5	217,1±35,9 n=8	209,3±23,8 n=12
L-selectina	7,8±0,1 n=3	9,9±1,1 n=6	9,1±0,1 n=3
CD11-CD18	12,0±4,2 n=5	14,9±0,6 n=4	23,7±4,2 n=3
ICAM-1	57,6±3,4 n=8	38,6±0,8* n=7	41,3±4,4* n=7

	Losartan	D+E	D+L
PA indireta	157,7±3,3* n=18	148,1±3,5* n=19	159,9±4,4* n=21
PA direta	-21,8% n=6	-20,3% n=6	-33,8% n=6
Rollers	65,2±7,8* n=9	90,2±9,4 n=9	58,6±8,2* n=9
Migradas	6,6±0,4* n=9	5,5±0,4* n=9	6,4±0,5* n=9
Leucograma	6660,0±299 n=5	8280,0±626 n=5	10262,5±916 n=4
DV	16,1±0,2 n=24	16,4±0,3 n=25	15,9±0,4 n=26
TAV	121,0±9,0* n=5	200,3±28,0 n=6	205,4±17,1 n=6
L-selectina	6,9±0,1 n=3	6,7±0,3 n=3	7,0±0,1 n=3
CD11-CD18	17,4±5,1 n=4	17,9±6,0 n=5	15,5±1,8 n=6
ICAM-1	35,4±1,9* n=7	41,3±1,6* n=7	45,2±1,8* n=7

04.090

EFEITOS DE INIBIDORES DE COX-1 E 2 NA MUCOSITE ORAL (MO) INDUZIDA POR 5-FLUOROURACIL (5-FU) EM HAMSTERS. ¹Souza, MLP, ¹Lima, V, ¹Leitão, BTA, ¹Sales, MVR, ²Brito, GAC, ¹Ribeiro, RA. Deptos Físio e Farmaco¹, Morfologia², UFC.

Introdução: a MO é um dos efeitos colaterais mais debilitantes da quimioterapia do câncer. Avaliamos os efeitos de Celecoxib (CLX), inibidor seletivo de COX-2, e da Indometacina (IND), inibidor preferencial de COX-1, na MO.

Métodos: a MO foi induzida em hamsters *Golden Siriams* machos (±120g) por 60 e 40 mg/kg-ip de 5-FU nos dias 1 e 2, respectivamente. No 4º dia foram feitas escoriações com agulha nas mucosas jugais dos animais (fator potenciador). Os animais receberam CLX(7,5;15;30;60mg/kg-sc) ou IND(0,25;0,5;1mg/kg-sc) durante 10d. Avaliaram-se: a) Macroscopia b) Histopatologia c) Lesões gástricas d) Mieloperoxidase (MPO) e) Leucograma e f) Variação de massa corpórea. Resultados: na macroscopia, CLX(7,5;15mg/kg) reduziu (p<0,05) hiperemia da mucosa, dilatação e congestão vasculares, úlceras e abscessos [CLX7,5=1(1-1);IND0,25=3(2-3);SAL=3(2-3)]. Tais achados foram confirmados pela análise histopatológica [CLX7,5=1(1-1);IND0,25=3(2-3);SAL=3(2-3)] e pelas dosagens de MPO com menor quantidade de neutrófilos (CLX7,5=3,5±0,1; SAL=5,9±0,07). CLX foi capaz de reduzir o nº e o tamanho das úlceras gástricas [CLX7,5=2(1-6);IND1=18(15-21);SAL=5,5(0-11)]. Observou-se redução da leucocitose do 10ºd (CLX60=1,4x10³±2,7;SAL=26,3x10³±2,7). A perda de massa corpórea, no entanto, não foi inibida por CLX ou IND.

Discussão: CLX foi capaz de reduzir a inflamação e infiltrado leucocitário, sugerindo, que a COX-2 possa ter um papel relevante na fisiopatogênese da MO. COX-1 pode ter um efeito protetor, visto que IND e maiores doses de CLX não preveniram o desenvolvimento da lesão Apoio: CNPq.

04.091

COX-2-DERIVED LIPOXIN A4 INCREASES GASTRIC RESISTANCE TO ASPIRIN-INDUCED DAMAGE. Menezes-de-Lima-Jr., O.1; Fiorucci, S.2; Mencarelli, A.2; Palazzetti B.2; Distrutti, E.2; McKnight, W.1; Dickey, M.1; Ma, L.1; Morelli, A.2 & Wallace, J.L.1 1 Mucosal Inflammation Research Group, University of Calgary, AB, Canada; 2 Università degli Studi di Perugia, Italy

Introduction: Cyclooxygenase-2 (COX-2) has been implicated as contributing to mucosal defence. Acetylation of COX-2 by aspirin (ASA) can result in production of an anti-inflammatory substance, 15R-epi-lipoxin A4. We determined if ASA-triggered lipoxin production via COX-2 diminishes ASA-induced damage in the rat stomach. Methods: Rats were treated with ASA plus or minus celecoxib or rofecoxib. Gastric generation of lipoxin A4 (LXA4) was measured. Effects of exogenous LXA4 or of a LXA4 receptor antagonist on

gastric resistance to ASA-induced damage were examined. ASA-induced leukocyte adherence in mesenteric venules, and the effects of LXA4, were examined by intravital microscopy. Results: Celecoxib and rofecoxib significantly increased the severity of ASA-induced gastric damage. ASA rapidly up-regulated COX-2 expression in the stomach and caused an increase in gastric LXA4 production, which could be abolished by celecoxib. LXA4 dose-dependently (0.25-2.5 mg/kg i.p.) reduced the severity of ASA-induced gastric damage, and suppressed ASA-induced leukocyte adherence, while a LXA4 antagonist had the opposite effects. Discussion: ASA administration results in elevated production of LXA4 via COX-2. LXA4 exerts very potent protective actions on the gastric mucosa. Co-administration of ASA and a selective COX-2 inhibitor results in substantially more severe gastric injury than is produced with either agent alone. Support: AHFMR.

04.092

ESTUDO DAS ATIVIDADES ANALGÉSICA E ANTIINFLAMATÓRIA DE NOVOS DERIVADOS TIODIAZÓLICOS. Gonçalves, M. M. S.; Silva, B.; Varandas, L. S.; Fraga, C. A. M.; Barreiro, E. J.; Miranda, A. L. P. LASSBio, Departamento de Fármacos, Faculdade de Farmácia, RJ, Brasil.

Introdução: No âmbito de uma linha de pesquisa de novas substâncias antiinflamatórias com seletividade para segunda isoforma da enzima ciclooxigenase (COX-2), uma nova série de derivados tiodiazólicos foi planejada e sintetizada, tendo como protótipo o flosulido (Ouímet et al. Bioorg. Med. Chem. Lett., 9, 151, 1999). Métodos: As atividades analgésica e antiinflamatória foram avaliadas nos ensaios de contorções abdominais induzidas por ácido acético 0,1N e formalina em camundongos, e edema de pata de rato induzido por carragenina, respectivamente. Os compostos foram administrados por v. o. nas doses de 100 e 300 mmol/kg. Resultados e Discussão: Os compostos mais ativos foram o LASSBio 756 e 726, que apresentaram inibição significativa do estímulo algésico (23% e 40%, respectivamente). Os mesmos inibiram 29% e 39% do edema na dose de 300 mmol/kg. Baseado nesses dados, LASSBio 756 e 726 foram submetidos ao ensaio de formalina apresentando inibição somente da fase hiperalgésica em 32% e 62% (n = 10; *p<0,05). Os compostos LASSBio 756 e 726 apresentaram uma importante atividade analgésica e antiinflamatória, reforçando o planejamento racional de novos fármacos. As relevantes atividades observadas na segunda fase de formalina e no edema sugerem uma possível ação sobre o metabolismo do ácido araquidônico. Apoio Financeiro: PRONEX, CNPq e FUJB.

04.093

ESTUDO DO PERFIL ANALGÉSICO E ANTIINFLAMATÓRIO DO COMPOSTO LASSBio 651, PLANEJADO COMO POSSÍVEL INIBIDOR SELETIVO DE COX-2. Silva, B.; Duarte, C.M.; Alexandre-Moreira, M.S.; Fraga, C.A.M.; Barreiro, E.J.; Miranda, A.L.P. - LASSBio, Depto. Fármacos, Faculdade de Farmácia, UFRJ, R.J, Brasil.

Introdução: Os produtos provenientes da cascata

do ácido araquidônico têm grande envolvimento no processo inflamatório, principalmente as prostaglandinas. Na busca de antiinflamatórios não-esteroidal de última geração, uma nova série de compostos N-acilidrazônico (NAH) indólicos foi planejada e sintetizada como possíveis inibidores seletivos da enzima ciclooxigenase-2. Neste trabalho descrevemos o perfil analgésico e antiinflamatório do composto NAH-indólico LASSBio 651. Métodos: LASSBio 651 foi avaliado em ensaios de inflamação: edema de pata e pleurisia induzido por carragenina e artrite adjuvante em ratos; ensaios de dor: contorção abdominal induzida por ácido acético, formalina e hot plate. Foi realizada a dosagem de PGE2 no modelo de air pouch induzido por LPS em ratos. Resultados e Discussão: O composto foi administrado v.o. na dose inicial de 100mmol/kg, inibindo em 38,1% as contorções sem apresentar efeito analgésico central no ensaio de hot plate. A DE50 obtida para o composto LASSBio 651 no edema foi de 9,8 mmols/kg. O mesmo não apresentou atividade significativa no ensaio de pleurisia (migração e exsudação), porém inibiu significativamente a artrite induzida por M. tuberculosis em até 47%. Não foi observado efeito gastrotóxico na administração aguda ou crônica do composto. O composto LASSBio 651 apresentou atividades analgésica e antiinflamatória semelhante ao celecoxib, sugerindo um perfil de atividade e seletividade sobre a COX-2. Agradecimentos: CNPq/PBIC, FUJB, PRONEX.

04.094

SPECIFIC COX-2 INHIBITORS CAN INHIBIT CELL RECRUITMENT DUE TO LPS INJECTION IN RAT PERITONEAL CAVITIES. Menezes, G.B., Maltos, K.L.M. and Francischi, J.N. ICB/UFGM Belo Horizonte, MG, Brazil

Aim: Analgesic, antipyretic and anti-oedematogenic activities were already attributed to specific-cyclooxygenase (COX)-2 inhibitors. However, data on inhibition of leukocyte recruitment by these drugs are still lacking in the literature. The aim of the present study was to compare the inhibitory potential of specific COX-2 inhibitors (celecoxib and rofecoxib) with indomethacin and piroxicam, considered unspecific COX inhibitors in a standard model of cell migration. Methods and Results: Female Holtzman rats (140-180g) were pre-treated (T, 30 min before stimuli) subcutaneously with 6mg/Kg celecoxib, 0.7mg/Kg rofecoxib or 2mg/Kg indomethacin and injected intraperitoneally with LPS (E.coli endotoxin, 0111:B4, 0.3µg in 1mL/site) or saline (C) in peritoneal cavity. The animals were sacrificed and the lavage fluid collected after 6 hours of LPS injection and prepared for total and specific cell counting. Cell migration was dose-dependently inhibited by celecoxib (T=11.18±1.59 x 10³; C=19.75±1.50x10³); rofecoxib (T=12.13±2.33 x10³; C=20.16±1.43 x 10³) and indomethacin (T=12.60±1.07 x10³; C=20.06±2.02 x 10³). This effect was due a significant reduction on lymphocyte, neutrophil and mast cell numbers. Surprisingly, a more specific COX-1 inhibitor, piroxicam, did not significantly affect cell recruitment due to LPS. Conclusion: Reduction of cell recruitment seems to be related to specific COX-2 inhibition, thus implying this isoform in cell recruitment induced by bacterial endotoxin. Financial support: CNPq, FAPEMIG and CAPES.

04.095

EFEITO DE DROGAS ANTIPIRÉTICAS NA FEBRE INDUZIDA PELO MIP-1α. Soares, D.M.; Penatti, R.C.; Fabricio, A.S.C.; Souza, G.E.P. Lab. Farmacologia, FCFRP-USP.

OBJETIVO: A proteína inflamatória de macrófagos-1 (MIP-1) e sua isoforma β induzem febre insensível à indometacina e à dexametasona, respectivamente^{1,2}. Neste estudo investigamos os efeitos da indometacina, dexametasona, dipirona e celecoxib na febre induzida por MIP-1α. MÉTODOS E RESULTADOS: A variação da temperatura retal (ΔTr) de ratos machos Wistar (200g) foi monitorada a cada 30 min, por 6h, após a injeção icv de MIP-1α (tabela). A dose de 500 pg promoveu maior ΔTr (pico na 4ªh) quando comparada à de ratos que receberam fluido cerebroespinal (CSF) e foi selecionada para os experimentos subsequentes. Indometacina (Indo) e dexametasona (Dexa) não modificaram, enquanto dipirona (Dip) e celecoxib (Celec) aboliram a febre causada por MIP-1α. Efeito de drogas antipiréticas sobre a febre induzida pelo MIP-1α.

Tratamento	MIP-1α (pg)	ΔTr (°C)	n
Sal	0	0.15 ± 0.05	7
Sal	250	0.41 ± 0.05	7
Sal	500	0.80 ± 0.14*	9
Sal	750	0.52 ± 0.05*	9
Dexa 0,5mg/kg s.c	500	0.71 ± 0.09	8
Indo 2mg/kg i.p	500	0.65 ± 0.08	8
Dip 120mg/kg i.p	500	0.25 ± 0.15 [#]	8
Celec 5 mg/kg v.o	500	0.10 ± 0.06 [#]	8

*. # P< 0.05 em relação aos respectivos controles

CONCLUSÃO: A febre induzida pelo MIP-1α, assim como a do MIP-1β, é insensível aos efeitos antipiréticos da indometacina e dexametasona, reforçando a hipótese de que os efeitos destas quimiocinas independem de PGs e não são modulados por glicocorticóides^{1,2}. Ainda, a efetividade da dipirona e do celecoxib reforça a existência de mecanismos de ação antipirética distintos da inibição das COXs destas drogas³.

1) Neuroreport 1998, 9:2519; 2) Pharmacol Biochem & Behav. 1991, 39:535; 3) Inflamm Res 2002, 51:24.

APOIO: FAPESP

04.096

PARTICIPAÇÃO DE DIFERENTES ISOFORMAS DA ENZIMA CICLOXIGENASE NA HIPERALGÉSIA SECUNDÁRIA INDUZIDA POR FORMALINA. Veiga, A.P.C. & Tatsuo, M.A.K.F. Departamento de Farmacologia-ICB-UFGM.

INTRODUÇÃO: A injeção de formalina (form) na pata de ratos induz um aumento na excitabilidade de neurônios na medula espinhal (sensibilização central) que leva ao aparecimento de hiper-sensibilidade em áreas distantes do local da injúria, fenômeno conhecido como hiperalgésia secundária (HS), e envolve a síntese de prostanóides pela ação da enzima ciclooxigenase (COX). O objetivo desse trabalho foi avaliar a participação de diferentes isoformas da enzima COX na HS induzida por formalina.

MÉTODOS: Ratos Wistar machos (160-180g) receberam injeção intraplantar (ipl) de form para induzir HS que foi avaliada na cauda através do teste de retirada de cauda (TRC). Celecoxib (ini-

bidor de COX-2) e piroxicam (inibidor de COX-1) foram administrados por via ipl (20µl) ou intratecal (10µl) antes (10min) ou após (7 min) form. Animais controle receberam o mesmo volume de veículo.

RESULTADOS: A injeção ipl de form produziu uma HS verificada pelo TRC. Celecoxib (Cel) ipl (400µg) administrado antes da form inibiu a HS, mas não teve efeito quando administrado após. Por via intratecal (it), o Cel (5,5µg) foi eficaz em inibir a HS quando administrado antes e após form. A administração ipl de piroxicam (800µg) antes da form não teve efeito sobre a HS ao passo que por via it (100µg) preveniu parcialmente o desenvolvimento da HS quando injetado pré form e em doses 20 vezes maiores que a usada para o Cel.

CONCLUSÃO: Os resultados sugerem que o fenômeno da HS que se desenvolve após a administração ipl de formalina decorre principalmente da ativação da isoforma COX-2, à nível central e periférico.

APOIO FINANCEIRO: FAPEMIG

04.097

COX-2 IS NOT INVOLVED IN MECHANICAL HYPERSENSITIVITY INDUCED BY PRE-FORMED PYROGENIC FACTOR (PPFF) DERIVED FROM MACROPHAGES. ¹Veiga-Souza, F.H., ¹Melo, M.C.C., ¹Penatti, R.C., ²Zampronio, A.R., ³Souza, G.E.P. ¹Lab. Pharmacology, FCFRP-USP, Ribeirão Preto, ²Department of Pharmacology, UFPR, Curitiba, Brazil.

Aim: The current study investigates the effect of celecoxib (selective COX-2 inhibitor) and the induction of COX-2 in mechanical hypersensitivity induced by PPFF.

Methods: Male Wistar rats (180 bw) were submitted to a paw pressure test, in which mechanical hypersensitivity was evaluated as a decrease in the time taken to react to application of a 20 mmHg stimulus to the hind paw (i.e. Δ reaction time, in s).

Results: Intraplantar injection of IL-1β (0.5 pg) or PPFF (135 ng) caused marked mechanical hypersensitivity (3rd h: saline: 2.0±0.5, IL-1β: 12.9±0.4, PPFF: 17.8±1.0), which was inhibited by treatment with celecoxib (10 mg/kg, po) (IL-1: -81%, PPFF: -57%). Injection of arachidonic acid (AA, 30 µg) 10 min before injections of submaximal doses of IL-1β (0.25 pg) or PPFF (45 ng) potentiated response to IL-1β (+89%), but did not affect PPFF-induced mechanical hypersensitivity.

Discussion: The effect of celecoxib on hyperalgesia induced by IL-1β and the potentiation of IL-1β-induced mechanical hypersensitivity by AA indicates the induction of COX-2 by IL-1β. Although celecoxib reduced the effect of PPFF, the lack of potentiation of PPFF-induced mechanical hypersensitivity by AA suggest that PPFF does not induce the expression of COX-2 and that additional effects independent of COX-2 and prostaglandins synthesis inhibition are involved in the mechanisms of action of celecoxib.

Support: FAPESP.

04.098

EFEITO DA DIPIRONA (DIP) SOBRE A LIBERAÇÃO DE MEDIADORES NOCICEPTIVOS POR MACRÓFAGOS (MØ). Verri Jr, WA; Francisco, GB; Cunha, FQ & Ferreira, SH. - Depto de Farmacologia, FMRP/USP

INTRODUÇÃO Há evidências que o efeito analgésico da DIP não ocorre via inibição da síntese de prostaglandinas, mas pode ser devido à inibição da liberação de citocinas nociceptivas de MØ. Como demonstramos que o TNF-α, IL-1β e quimiocinas estão envolvidos no efeito nociceptivo do sobrenadante de MØ estimulados com LPS, investigamos se o efeito analgésico da DIP deve-se-ia à inibição da liberação dessas citocinas MÉTODOS MØ obtidos de ratos Wistar pré-tratados com tioglicolato foram plaqueados (placas de 24 poços; 2.0x10⁶ células/poço) e estimulados com LPS, na presença ou não da DIP. A avaliação nociceptiva foi realizada pelo teste de contorções abdominais (ca) induzidas pela injeção ip do sobrenadante da cultura de MØ (250µl/cavidade) em camundongos Swiss. As concentrações de TNF-α, IL-1β e CINC-1 no sobrenadante foram dosadas por ELISA RESULTADOS O pré-tratamento dos MØ com DIP(7; 21 e 63µg/mL) inibiu de maneira dose-dependente a liberação da atividade nociceptiva causada pelo estímulo com LPS10µg/mL(36±0,9; 17±5; 10±4,4; respectivamente, controle positivo 36±6,5ca). Porém, a maior dose de DIP foi incapaz de inibir a liberação de TNF-α(LPS 2,502±0,045 e DIP+LPS 2,638±0,073ng/mL), IL-1β(LPS 0,513±0,034 e DIP+LPS 0,802±0,222ng/mL) ou CINC-1(LPS 7,860±0,253 e DIP+LPS 7,511±1,013ng/mL) DISCUSSÃO Neste modelo experimental a DIP causou antinocicepção de maneira dose-dependente sem inibir a liberação de TNF-α, IL-1β ou CINC-1. Assim, cabe investigar que outro mediador esta sendo liberado pelos MØ estimulados com LPS, cuja liberação é inibida pela DIP.

APOIO FINANCEIRO CAPES, FAPESP, CNPq e FAP-EP

04.099

ESTUDO SOBRE O ENVOLVIMENTO DE CANAIS DE POTÁSSIO NA ANTINOCICEPÇÃO PERIFÉRICA INDUZIDA POR DIPIRONA. Alves, D.P., Pacheco, D.F. & Duarte, I.D.G., Departamento de Farmacologia, ICB-UFMG, MG.

INTRODUÇÃO: Além do efeito comum de inibição da síntese de prostaglandinas, a dipirona apresenta também uma ação direta sobre o evento hiperalgésico. Foi, por nós, anteriormente demonstrada, a participação de canais de potássio (CK⁺) sensíveis ao ATP no mecanismo final de antinocicepção periférica induzida por dipirona. O presente trabalho tem por objetivo avaliar o possível envolvimento de outros tipos de CK⁺ nesse efeito.

MÉTODOS: O limiar nociceptivo foi medido pelo método de compressão da pata de ratos (Wistar, machos, 160-200 g, n=5). A hiperalgésia foi avaliada pela diferença (Δ) entre as medidas do limiar nociceptivo inicial (expresso em gramas),

sem o agente hiperalgésico (PGE₂, 2µg/pata), e aquela da terceira hora após sua administração. Todos os fármacos foram administrados por via intraplantar.

RESULTADOS: A PGE₂ induziu hiperalgésia que foi revertida de forma dose-dependente por dipirona (50, 100 e 200 µg). O efeito antinociceptivo periférico da dipirona na dose de 200 µg não foi revertido pelos bloqueadores específicos de CK⁺ ativados por cálcio, caribdotoxina (2 µg) ou dequalinium (50 µg). Os bloqueadores de CK⁺ dependentes de voltagem tetraetilamônio (600 e 1700 mg) e 4-aminopiridina (50 e 100 µg), assim como um bloqueador não específico de CK⁺, césio, na dose de 500 µg, também não foram efetivos em reverter o efeito antinociceptivo periférico induzido por dipirona.

CONCLUSÃO: Os resultados sugerem que canais de potássio ativados por cálcio, assim como canais de potássio dependentes de voltagem não estão envolvidos na antinocicepção periférica induzida por dipirona.

APOIO: FAPEMIG, CNPq.

04.100

MECANISMOS ADICIONAIS PARTICIPAM DA ATIVIDADE ANTIPIRÉTICA DA NIMESULIDA. Werner, M.F.P.¹, Reis, R.C.¹, Souza, G.E.P.², Zampronio, A.R.¹, ¹Dep. de Farmacologia, UFPR, PR; ² Disc. de Farmacologia, FCFRP, USP, SP.

Introdução: Comparamos o efeito da nimesulida (NIM) e da indometacina (IND) sobre a febre induzida por LPS e por pirogênicos endógenos: interleucina (IL)-1β, IL-6, fator de necrose tumoral (TNF)-α, ácido araquidônico (AA), fator pirogênico pré-formado (PPFF), proteína inflamatória derivada de macrófagos (MIP)-1α, prostaglandinas (PG) E₂ e F₂α, fator liberador de corticotropina (CRF) e endotelina (ET)-1. Métodos: Ratos Wistar machos (200g) receberam NIM (3mg/kg) ou IND (2mg/kg) 30min antes do LPS 50µg/kg ip ou IL-1β (3ng), IL-6 (300ng), TNF-α (250ng), AA (50ng), PPFF (100ng), MIP-1α (500ng), PGE₂ e PGF₂α (250ng), CRF (2µg) e ET-1 (1pmol) icv e a temperatura retal foi avaliada a cada 30min por 6h. Avaliamos os níveis de PGs no fluido cerebroespinal (CSF) 3h após os tratamentos com NIM ou IND e LPS por ELISA. Resultados: NIM reduziu a febre induzida por LPS (55%), IL-1β (77%), IL-6 (70%), TNF-α (60%) e AA (59%) mais efetivamente que a IND (30, 17, 58, 40, 36% respectivamente). NIM, mas não IND, reduziu a febre induzida por PPFF (64%), MIP-1α (54%), PGF₂α (28%), CRF (61%) e ET-1 (56%). NIM e IND não modificaram a febre induzida por PGE₂. LPS aumentou os níveis de PGE₂ e de PGF₂α (1387,5±65,2 e 276,5±55 pg/mL) no CSF enquanto que NIM e IND reduziram os níveis de PGE₂ para 154,2±44,9 e 386,2±75,7 pg/ml e de PGF₂α para 49,6±8,9 e 45±4,8 pg/ml, respectivamente. Conclusão: Os resultados sugerem que além da inibição da atividade da COX, a NIM possui outros mecanismos que a tornam mais efetiva em reduzir a resposta febril quando comparada a IND. Apoio Financeiro: CAPES/FAPESP

04.101

COMPARAÇÃO DAS RESPOSTAS HIPERALGÉSICA E EDEMATOGÊNICA À CARRAGENINA EM DUAS LINHAGENS DE RATOS: EFEITO DO PARACETAMOL. Ribeiro, M. C. e Francischi, J. N. Depto. Farmacologia-ICB/UFMG Belo Horizonte, MG, Brazil

Introdução: Variáveis como raça, sexo, clima, etc, interferem na intensidade das respostas inflamatórias medidas, especialmente em relação à dor. O objetivo deste trabalho foi comparar as respostas hiperalgésica e edematogênica à carragenina em duas linhagens de ratos. Métodos: Carragenina lambda (CG, Sigma, 0.25 mg/sítio em 0.1 mL salina) foi injetada intraplantarmente em uma das patas posteriores de ratos Wistar ou Holtzman machos e fêmeas (150-180 g, N=3-7/grupo) e a hiperalgésia (em gramas, Randall-Selitto) e edema (em mL, pletismômetro Ugo Basile) medidos de hora em hora até a 6ª hora e na 24ª hora após as injeções. As patas contralaterais foram injetadas com igual volume de salina fisiológica estéril. Resultados: não se observou diferença significativa entre a intensidade das respostas hiperalgésicas e edematogênicas à CG apresentadas pelos ratos machos e fêmeas Wistar e Holtzman, em relação a todos os tempos estudados. O pré-tratamento (1/2 h antes, via oral) com paracetamol (Tylenol, 120 mg/kg) reduziu significativamente a hiperalgésia à CG de ratos Holtzman, não tendo sido observado o mesmo resultado em animais Wistar, sob as mesmas condições. A resposta edematogênica não foi afetada pelo analgésico em ambas as linhagens de animais. Conclusão: embora os sinais e sintomas inflamatórios sejam semelhantes, as respostas ao paracetamol podem variar, dependendo da linhagem de animal considerada. Apoio: CNPq, FAPEMIG e CAPES.

04.102

THE EFFECT OF TITYUS SERRULATUS SCORPION VENOM ON THE PANCREATIC PLASMA EXTRAVASATION IN RATS. 1Esquisatto, L.C.M.; 1Camargo, E.; 2Ribela, M.T.P.; 1De Nucci, G.; 1Antunes, E. 1Department of Pharmacology, UNICAMP; 2Department of Application of Nuclear in Techniques in Biological Sciences IPEN/CNEN, USP.

Introduction: Acute pancreatitis is a disorder whose pathophysiology remains obscure. Although several pathways have been reported to be involved in the pathogenesis of the disease, the precise mechanisms are still poorly understood. It is known that lung injury is frequently related with acute pancreatitis. The administration of a toxin from *Tityus serrulatus* scorpion venom induces morphological pancreatic alterations in rats that are associated with degranulation and vacuolization of acinar cells. We have investigated whether *Tityus serrulatus* scorpion venom causes an increase in pancreatic vascular permeability and neutrophil infiltration in the lung. Methods: Animals were anaesthetized and a laparotomy was performed. The biliopancreatic duct was cannulated transduodenally with a polyethylene tube. Saline (SAL), sodium taurocholate 5% (TAU) or *Tityus serrulatus* scorpion venom (TSV) were

injected under a steady manual pressure over a period of 60 sec into the pancreatic duct system. Plasma protein extravasation was measured by i.v. 125I-human serum albumin. Neutrophil infiltration was assessed by evaluating the MPO activity in the rat lung tissues. Results: Four hours after the injection, TSV (10-100 µg/kg) markedly increased the pancreatic plasma extravasation, without affecting the lung neutrophil infiltration when compared with SAL group. TSV (30 µg/kg) caused significant pancreatic plasma extravasation at 4, 6 and 12 hours after injection, but not at 24 hours after. At these times, the neutrophil infiltration evoked by TSV did not significantly differ from SAL group. Conclusions: Our results suggest that TSV acts via microvascular permeability-increasing mechanisms, but further studies with different experimental approaches are necessary. Financial Support: FAPESP.

04.103

NEUROGENIC INFLAMMATION INDUCED BY PHOSPHOLIPASE A2 (PLA2) FROM CROTALUS DURISSUS COLLILINEATUS AND CROTALUS DURISSUS TERRIFICUS VENOMS ON RAT DORSAL SKIN. 1,2Câmara, P.R.S., 2Esquisatto, L.C.M., 2Camargo, E., 3Ribela, M.T.P., 2Antunes, E., 1Toyama, M.H., 1Marangoni, S., 1Department of Biochemistry and 2Pharmacology, Unicamp, SP and 3Department of Application of Nuclear in Techniques in Biological Sciences IPEN/CNEN, USP.

INTRODUCTION: Crotoxin is the main neurotoxic component present in the South American rattlesnake *Crotalus durissus* sp. Crotoxin consists of a reversible protein complex composed of two non-identical sub-units, a basic PLA2 and an acidic non-enzymatic component named crotoxin (CA). This work was designated to investigate the rat skin plasma extravasation induced by PLA2 isolated from both *C.d. collilineatus* and *C.d. terrificus* venoms. The participation of substance P on the PLA2-induced oedema was investigated using both the tachykinin NK1 receptor antagonist SR140333 and capsaicin neonatal treatment. The involvement of mast cells was also investigated. METHODS: Oedema formation was evaluated by measurement of extravascular accumulation of injected 125I-human serum albumin in dorsal skin of anaesthetized rats. RESULTS: Intradermal injection of PLA2 from either *C.d. collilineatus* (0.5 µg/site) or *C.d. terrificus* venoms (0.5 µg/site) caused a significant plasma extravasation in the dorsal skin (126 ± 9 and 118 ± 9.4 µl/site, respectively; P < 0.05) compared to Tyrode-injected sites (19 ± 3.5 µl/site). The treatment of rats with cyproheptadine reduced the oedema formation induced by both PLA2, suggesting the involvement of mast cells. The oedema formation induced by both PLA2 was also inhibited in the capsaicin-pretreated rats (37.4% and 45% reduction, respectively, P < 0.05) compared to control group. The compound SR140333 inhibited by 62% and 47.2% the PLA2 *C.d. collilineatus*- and PLA2 *C.d. terrificus*-induced oedema, respectively. CONCLUSIONS: Our results indicate that both PLA2 isolated from *Crotalus* venoms increase the microvascular permeability by mechanism involving skin mast cells and sensory neurons. Financial support: FAPESP

04.104

RELEASE OF TNF-alfa BY ELICITED MACROPHAGE STIMULATED WITH BAP1, A METALLOPROTEASE ISOLATED FROM BOTHROPS ASPER SNAKE VENOM. 1Fernandes, C.M.; 1Zamuner, S.R.; 2Gutiérrez, J.M.; 2Rucavado, A. and 1Teixeira, C.F.P. 1-Laboratory of Pharmacology, Butantan Institute, Brasil, 2-Clodomiro Picado Institute, Costa Rica.

Introduction: Metalloproteases are abundant enzymes in crotalinae and viperinae venoms. They are involved in venom local and systemic toxic effects which include haemorrhage, platelet alterations and myonecrosis. BaP1 is a 24 kDa metalloprotease isolated from *Bothrops asper* snake venom (Central America). This toxin induces not only weak haemorrhage, but also a moderate myonecrosis and oedema. In the present study we evaluated the effects of BaP1 on isolated peritoneal elicited macrophages (Mos) analyzing the cell viability and production of tumor necrosis factor (TNF-alfa). Methods: Mos from Swiss male mice were obtained 96h after intraperitoneal (i.p.) injection of thioglycollate. These cells were incubated (5 to 90 min) with BaP1 (6.25 – 25 micrograms/mL) or RPMI (control). Cell viability was assessed by Trypan Blue exclusion test. TNF-alfa was determined by a standard assay using L929 cell line in co-culture with Mos. Results: BAP1 induced a marked release of TNF-alfa at 5 min of incubation with all the concentrations used. However, no release was detected at 30min. A significant release of cytokine was observed only with 25 micrograms/mL of BAP1 at 60min. Significant but low concentrations of TNF-alfa were released from macrophages 90min after incubation with all concentrations of the toxin. Discussion: The present data demonstrate that BaP1 is not directly toxic to elicited Mos and is able to induce the release of TNF-alfa by these cells. This effect appears to be related to the toxin proteolytic activity at the first period and also to induction of TNF-alfa synthesis at the last period of incubation. Financial Support: FAPESP

04.105

EFFECTS OF BOTHROPS ASPER CRUDE VENOM AND TWO ISOLATED PHOSPHOLIPASE A2 (PLA2) MYOTOXINS ON THE RELEASE OF PROSTANOIDS AND EXPRESSION OF CYCLOOXYGENASES. Zamuner, SR1; Wallace, JL2; Olivo, RA1; Teixeira, CFP. 1 Laboratório de Farmacologia, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil; 2Dept of Pharmacology and Therapeutics, University of Calgary, Canada.

Introduction: *Bothrops asper* (BaV) envenomation is characterized by prominent local tissue damage, with necrosis, hemorrhage and edema. Various PLA2, which induce local pathological alterations, have been purified from BaV. Among them, myotoxin II (MT II) is a Lys 49 PLA2 homologue devoid of catalytic activity, and myotoxin III (MT III) is an Asp 49, enzymatically active variant. Preliminary results of our laboratory have shown that BaV-induced paw edema is markedly reduced by indomethacin but not by zylflo pretreatment. Methods and Results: In this study we evaluated: a) the release of PGE2 and

PGD2 induced by i.p. injection of BaV (0,25 mg/kg), MT II and MT III (1 mg/kg) measured by specific enzymatic immunoassay kit and b) expression of COX-1 and COX-2, in peritoneal leukocytes, by western blot analyses. BaV, MT II and MT III induced a significant release of PGE2. BaV and MT II, but not MT III induced the release of PGD2. The venom and myotoxins increased the expression of COX-2 but did not affect the expression of COX-1. Discussion: These results indicate that BaV and both myotoxins induce production of prostanoids in the local of their injection. This effect appears to be related to their ability to induce the expression of COX-2 but not COX-1 by peritoneal leukocytes. Moreover, obtained data suggest that the catalytic activity of PLA2 is not relevant for induction of release of prostanoids and expression of COX-2. Financial support: FAPESP

04.106

PARTICIPATION OF PHOSPHOLIPASES (PLA2) IN THE EFFECT OF BOTHROPS ASPER VENOM (BaV) ON ENDOTHELIAL CELLS (EC) IN VITRO. 1Milan, M.R.S.; 2Gutiérrez, J.M. and 1Teixeira, C.F.P.1 Laboratory of Pharmacology, Butantan Institute Brasil, 2Clodomiro Picado Institute, Costa Rica

Introduction: Previous data of this laboratory have showed that BaV reduces both the integrity of EC monolayers and the cell viability. In this study we evaluated the participation of PLA2 activity on the BaV-induced EC monolayers detachment and reduction of EC viability. Methods and Results: Human EC of ECV-304 line were used. Integrity of monolayers was monitored by microscopic examination and quantified by staining with crystal violet, followed by lise with methanol, and determination of OD at 630nm. EC viability was determined by tripan blue dye exclusion assay. Inactivation of PLA2 activity was obtained by incubation of crude BaV with para-Bromo phenacyl bromide (p-Bpb) followed by elution from sephadex G25 collums with Tris HCl, and subsequent lyophilization. Results showed that control eluted crude BaV at concentrations of 25 and 50mg/ml caused a significant level of EC detachment from 30 to 240min. Lower concentrations of venom did not induce EC detachment. Inactivation of venom PLA2 by p-Bpb resulted in a marked reduction of the venom-induced EC detachment from 60 to 120min of incubation with 25mg/ml, and at 60min after incubation with 50mg/ml. Inactivation of venom PLA2 activity also significantly reduced the toxic effect on cell viability caused by 50mg/ml of BaV. Discussion: These data suggest that PLA2 activity contribute for the venom-induced damage on integrity of EC monolayers and cell death. Thus, the effect of venom PLA2 on EC detachment may be related to its toxic activity on cell viability. Financial Support: FAPESP

04.107

CARACTERIZAÇÃO DAS RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS CAUSADAS PELO VENENO DE ABELHA DA ESPÉCIE *Apis mellifera* NA PATA DE RATO. Calixto, M.C., Trichês, K.M., Calixto, J.B. Departamento de Farmacologia, UFSC-SC.

Introdução e objetivos: A picada de abelha é caracterizada por intensa dor seguida de edema. Contudo, os mediadores inflamatórios e os mecanismos envolvidos nestes efeitos são pouco conhecidos. O presente estudo investiga os mecanismos envolvidos na resposta inflamatória do veneno de abelha *Apis mellifera*(BV) na pata de rato. Métodos e resultados: Foram utilizados ratos Wistar machos (180–200g). A injeção intraplantar (ipl) de veneno (0.1–5 µg/pata) produziu edema que foi dose e tempo dependentes com pico aos 30 minutos, desaparecimento 24 h após. O edema máximo foi de 0,942 ml na dose de 3 µg/pata com DE₅₀ de 1,5 µg/ml. A atividade da mieloperoxidase (MPO, indicativo da migração de neutrófilos), aumentou 1.61, 4.82, 8.87 vezes 0,5, 4 e 6 h após a injeção do BV, retornando aos valores controles 24 h após. O composto degranulador de mastócitos, o antagonista da histamina, antagonista da serotonina e histamina, inibiram o edema do BV(88; 62 e 96%, respectivamente). O inibidor da síntese de óxido nítrico, antagonista NK₁, antagonista B₁, antagonista B₂ para as cininas, também inibiram o edema do BV(60, 59, 49 e 49%, respectivamente). Os antagonistas NK₂ e NK₃, a indometacina e a dexametasona, causaram pequena inibição do edema(31, 29, 8 e 22%, respectivamente). Já o antagonista do PAF ou o inibidor da COX-1 não inibiram o edema do BV. Os níveis da MPO foram também inibidos 6 h após injeção do BV pelo composto 48/80(85%), ciproheptadina(61%), Hoe 140(59%) ou pela DALBK (53%). Conclusão: Vários mecanismos estão envolvidos na inflamação do BV destacando-se: migração de neutrófilos; liberação de histamina/serotonina dos mastócitos; cininas atuando nos receptores B₁ e B₂, as taquicininas atuando nos receptores NK₁ e finalmente óxido nítrico. Apoio financeiro: CNPq, FINEP e PRONEX.

04.108

BRADYKININS AND INTERLEUKIN 1 BUT NOT ENDOTHELINS MEDIATE FEVER INDUCED BY VENOM of *Tityus serrulatus* IN RATS. Pessini, A. C.; *Arantes, E.C.; * Souza, G.E.P. *Lab. Pharmacology and **Lab. Physical and Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Univ. São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil.

AIM: The present study aimed to investigate the involvement of kinins, endothelins and interleukin-1 on fever induced by *Tityus serrulatus* venom (Tsv).

METHODS/RESULTS: Rectal temperature (rT) of male Wistar rats (200g bw) was measured every 30 min for 6 h after injection of Tsv (150µg/Kg

ip). Receptors antagonists, at doses indicated in the table, were given 30 min before Tsv. The intraperitoneal (i.p.) injection of B₂, HOE-140 or B₁, Des-Arg⁹-[Leu⁸]-BK (DABK), kinins receptors antagonist or intravenous (i.v.) injection of IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) abolished the fever induced by Tsv, while i.v. or i.p. injection or bosentan (BOS, a non-selective ET_A/ET_B receptors antagonist of endothelins,) did not change this response.

Effect of HOE-140, DABK, BOS and IL-1ra on Tsv-induced fever

Stimulus	Treatment	ΔrT (°C)*	n
Tsv (150 µg/kg, ip.)	saline	1.78 ± 0.25	10
Tsv (150 µg/kg, ip.)	HOE-140 (1 mg/Kg, ip.)	0.42 ± 0.11	11
Tsv (150 µg/kg, ip.)	DABK (1 mg/kg, i.p.)	0.32 ± 0.18	5
Tsv (150 µg/kg, ip.)	IL1ra (1 mg/kg, i.v.)	0.29 ± 0.20	10
Tsv (150 µg/kg, ip.)	BOS (10 mg/Kg, ip.)	2.07 ± 0.32	8
Tsv (150 µg/kg, ip.)	BOS (10 mg/Kg, iv.)	2.19 ± 0.30	7

*ΔrT: rT at the indicated time minus basal rT. **P < 0.05 compared to control

CONCLUSION: Kinins via B₁ and B₂ receptors and IL-1 mediate the fever induced by Tsv while endothelins seem not to be involved in this response. Financial support: CAPES, FAPESP Proc. 00/12574-1; 97/9837-6

04.109

RESPOSTA NOCICEPTIVA E EDEMA INDUZIDOS PELA INJEÇÃO DE VENENO DE *Tityus serrulatus*. Bertollo, C.M.; Costa, K.A.; Reis, M.F.; Rocha, L.S.T.; Souza, A.L.S.; Nascimento Jr, E., B.; Moraes-Santos, T.M.; Coelho, M.M. Faculdade de Farmácia/UFMG

Objetivo: Acidentes escorpionicos estão associados com experiência dolorosa intensa. O presente estudo teve como objetivo caracterizar a resposta nociceptiva e o edema de pata resultantes da injeção de veneno bruto de *Tityus serrulatus* e identificar drogas capazes de inibir essas respostas.

Métodos e Resultados: Veneno de *T. serrulatus* (1 ou 10 µg de proteína, i.pl.) induziu hiperalgesia térmica, alodinia mecânica e edema em ratos. Injeção (0,1 ou 1 µg) na pata posterior de camundongos induziu resposta nociceptiva espontânea (lambida de pata). Pré-tratamento i.p. com indometacina (4 mg/kg), dipirona (200 mg/kg), dexametasona (4 mg/kg) ou ciproheptadina (10 mg/kg), mas não com L-NAME (50 mg/kg) ou prometazina (5 mg/kg), inibiu (43%, 53%, 19%, 66%, respectivamente) o tempo de lambida de pata. O edema de pata foi inibido pelo tratamento prévio com prometazina (5 ou 10 mg/kg, i.p.). Conclusões: O veneno induziu resposta nociceptiva espontânea, alodinia mecânica, hiperalgesia e edema. Duas drogas antiinflamatórias não-esteróides, uma que inibe a atividade de ciclooxigenases e outra que induz o seu efeito analgésico por ações predominantemente centrais (Brain Res. 725:106, 1996; Pharmacology 53:71, 1996), bem como dexametasona e ciproheptadina, inibiram a resposta nociceptiva induzida pelo veneno. Os resultados indicam que múltiplos mediadores estão envolvidos na indução da resposta nociceptiva e que histamina é importante para a indução do edema.

Apoio financeiro: FAPEMIG e CNPq

04.110

MAST CELL INVOLVEMENT IN THE *Bothrops(B.) jararaca*- INDUCED HYPERALGESIA IN THE RAT PAW: A ROLE FOR METALLO-PROTEASES. Bonavita, A.G., Barreto, E.O., Cordeiro, R.S., Ferreira, A.G.⁽¹⁾, Perales, J.H.⁽¹⁾, Martins, M.A., Silva, P.M.R. Labs of Inflammation and ⁽¹⁾of Toxinology, IOC/FIOCRUZ, RJ, Brazil.

INTRODUCTION: We described that *B. jararaca* venom has a direct effect on mast cell degranulation *in vitro* (Bonavita col., 338,2000). In this study, by means of an anti-metalloprotease fraction purified from the *Didelphis marsupialis* serum (DM43), we investigated if the snake venom metalloprotease (SVMP) could be involved in the mast cell activation *in vitro* and also in the hyperalgesia induced *B. jararaca* venom in the rat paw. **METHODS AND RESULTS:** Purified rat mast cells were stimulated with *B. jararaca* venom (5 µg/ml) and the released histamine was quantified fluorimetrically. Hyperalgesia was evaluated as the latency of rat paw withdrawal from a heat surface (52°C) after venom stimulation (5 µg/paw). We noted that the *B. jararaca*-evoked mast cell degranulation, was abolished by the DM43 fraction. Similarly, the hyperalgesia induced by the venom was significantly inhibited by the DM43 fraction, a response which was also sensitive to antagonists of serotonin (methysergide) and H1 histamine (meclizine) receptors, cyclooxygenase inhibitor (indomethacin) as well as neuropeptide and bradykinin B2 receptor antagonists. **CONCLUSION:** Our findings show that the anti-metalloprotease fraction DM43 suppressed both *B. jararaca*-induced mast cell degranulation *in vitro* as well as the hyperalgesic response, clearing indicating that SVMP by means of mast cell activation can play an important role in the hyperalgesia produced by *B. jararaca* venom in the rat paw (Financial support: CNPq, FIOCRUZ).

04.111

NOCICEÇÃO, EDEMA E HIPERALGESIA INDUZIDOS POR VENENO DE *Lonoria obliqua* EM RATOS. Bastos, L.C.¹, Veiga, A.B.G.², Guimarães, J.A.², Tonussi, C.R.¹. ¹Depto. de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC. ²Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS.

Introdução: O contato da pele humana com espículas da lagarta *L. obliqua* provoca dor e resposta inflamatória ainda pouco estudada. Este trabalho se propõe a padronizar um modelo animal para a avaliação destes efeitos.

Métodos: Ratos Wistar machos (180-250g), receberam injeção intraplantar de veneno de *L. obliqua* ou outra substância nociceptiva (50 µl), e após, analisou-se e ocorrência de nociceção (nº de lambidas e sacudidas da pata; NLS), edema (volume da pata) e hiperálgesia ao frio (imersão em água a 15°C, 10s). O veneno foi obtido por maceração e homogeneização das espículas em água deionizada, seguido de centrifugação e liofilização.

Resultados: Extrato de espícula nas doses de 17,5; 35; 50 e 100 µg, produziu maior intensidade de resposta nos 5 min iniciais, respectivamente de 30,17 ± 1,96; 34,83 ± 2,02; 42,17 ± 4,87 e 38,33 ± 3,94 NLS. O edema total em 6 h foi res-

pectivamente de 2,72 ± 0,15; 2,55 ± 0,21; 3,34 ± 0,32; 3,44 ± 0,46 U.A.. A dose de 35 µg, produziu resposta ao frio de 5,42 ± 0,82 NLS_{1-6h} (média das medidas entre 1 e 6 horas). Formalina 0,5%, capsaicina 1,6 µg, PGE₂ 500 ng e salina 0,9% produziram respostas de 1,2 ± 0,37; 0,75 ± 0,21; 0,80 ± 0,24 e 0,44 ± 0,30, respectivamente.

Discussão: A injeção intraplantar de veneno de *L. obliqua* induz, de forma consistente, nociceção e edema. A nociceção espontânea é seguida por um período prolongado de sensibilização ao frio, de forma aparentemente específica, pois estímulos de nociceção similar (formalina e capsaicina) ou tratados com PGE₂ não induzem o mesmo estado.

Apoio: CAPES, CNPq.

04.112

MODULAÇÃO DA MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA NA PERITONITE INDUZIDA POR CARRAGENINA EM ANIMAIS TRATADOS COM PRÓPOLIS P1 E SOBRE A PRODUÇÃO DE NO EM MACRÓFAGOS MURINOS IN VITRO. Longhi, D.T., Ballmann, J.D., Scremin, A., Calixto, J.B., Paulino, N., 1.BIOFAR, UNISUL, Tubarão, SC. 2.Dep.to Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC.

Introdução: A própolis é composta por um material resinoso, produzido pelas abelhas e utilizada na medicina popular como antiinflamatório. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do extrato de própolis (P1) sobre a migração peritoneal e sobre a produção de NO por células RAW 264.7.

Métodos: Foram utilizados camundongos machos tratados com P1 (1, 10 ou 100mg/Kg, i.p.), 30 min antes da peritonite (carragenina, 1mg/mL, i.p.). Após 4 h o lavado peritoneal foi coletado em PBS. Foram avaliados o total e diferencial de células e a atividade mieloperoxidase (MPO). Avaliou-se também, a atividade de P1 (10, 30 ou 100µg/mL) sobre a produção de NO (Griess) em células RAW 264.7, ativados com LPS (1µg/mL, 24 h). A viabilidade celular foi avaliada pelo MTT.

Resultados: A própolis P1 (1, 10 ou 100mg/Kg, i.p.) inibiu a migração leucocitária em 51 ± 3,9%, 76 ± 3,8% ou 80 ± 2,5%, respectivamente, com uma CI₅₀ de 0,98 ± 0,41mg/Kg. Enquanto a atividade MPO foi de 1,19, 0,78 e 0,48U/mL, respectivamente. Em células RAW 264.7, a produção de nitrato foi de 47,2 ± 1,6µM após 24 horas, enquanto que a P1 (10, 30 ou 100µg/mL) reduziu a produção para 44,4 ± 1,4, 34,7 ± 1,7 ou 30,5 ± 1,5µM, respectivamente. A viabilidade celular pelo MTT foi superior a 95% em 24 h.

Conclusões: Nossos resultados sugerem que o extrato de própolis P1 pode reduzir a ativação celular leucocitária e, portanto, impedir a migração pró-inflamatória peritoneal *in vivo*.

Apoio: BIOFAR-UNISUL/Prodaps.

04.113

ANTI-HISTAMINIC AND ANALGESIC ACTIONS FROM BRAZILIAN TREE. Pennaforte RJ; Marques PR; Ramos MFS; Siani AC; Henriques. MGMO. Institute of Drug Technology - Oswaldo Cruz Foundation- RJ.

A tall tree, which grows to a height of 130 meters from Meliaceae family, can be found growing wild throughout the Amazon Rainforest. The tree bark, leaves and the seed oil of this plant are most used medicinally. The oil-resin obtained from seeds is a reputed folk remedy in its natural form. Among the many properties attributed to the oil, the anti-inflammatory and the anti-rheumatic are the most important. In this work we studied the anti-inflammatory and analgesic effects of oil-resin, now called FA2-410. The FA2-410 used in our experiments was chemically standardized, with the chemical marker for pharmacological activity quantified. Pharmacological assays were conducted with male Wistar rats treated orally, with oil-resin (50-400 mg/kg), diclofenac (100 mg/kg) or Ciproheptadine (30 mg/kg) 1 h before paw stimulation. Oedema (by plethysmography) and hyperalgesia (by thermal plantar test) were evaluated 3 h after carrageenan (800 µg/paw); 1 h after ovalbumin (12 µg/paw), in actively sensitised rats and 30 min after histamine (100 µg/paw). Treatment with oil-resin showed a non-specific analgesic effect in these hyperalgesic stimuli. However, the anti-edematogenic effect was only observed when the histamine was injected into the hindpaw. Our results show that FA2-410 oil-resin presents a potent anti-hyperalgesic effect, in the three different challenges. However, the anti-oedematogenic effect was only observed against histaminic inflammation.

04.114

ANTI-INFLAMMATORY AND ANALGESIC EFFECTS OF BRAZILIAN COPAIBA OIL-RESIN. Pennaforte RJ; Marques PR; Tappin MRR; Siani AC; Henriques. MGMO. Institute of Drug Technology - Oswaldo Cruz Foundation- RJ.

Copaiba is a large tree that grows abundantly in North States of Brazil. The oil-resin obtained by cuts on the stem bark is reputed folk remedy in its natural form. Phytochemical studies revealed the presence of a mixture of terpenes that can be present in different concentrations. In this work we studied the anti-inflammatory and analgesic effects of oil-resin from Copaiba with sesquiterpenes contents quantified. The oil-resin was analysed by gas-chromatography and presented 94.2% of sesquiterpenes. Pharmacological assays were conducted with male Wistar rats treated orally, with oil-resin (50-400 mg/kg) or diclofenac (100 mg/kg), 1 hour before intra-plantar injection of carrageenan (800 µg/paw) or ovalbumin (12 µg/paw) in actively sensitised rats. Oedema (by plethysmography) and hyperalgesia (by thermal plantar test) were evaluated 1h or 3 hours after stimulus. Treatment with oil-resin induced a discrete anti-inflammatory effect on carrageenan-oedema (33.7% of inhibition, 400 mg/kg) but significantly reduced the hyperalgesia (78% inhibition, 200 mg/kg). In allergic rats, the treatment with diclofenac inhibited the oedema (56%) and hyperalgesia (71.5%). Treatment with copaiba oil-resin inhibited the oedema formation in 59% (400mg/kg) and hyperalgesia in dose-response way (47.5, 64, 88.9% of inhibition). Our results show that copaiba oil-resin with high contents of sesquiterpenes presents a potent effect, inhibiting either oedema formation or hyperalgesia observed in allergic inflammatory process.

04.115

SOBRE O MECANISMO DA LIBERAÇÃO DE HISTAMINA INDUZIDA POR LECTINAS DE PLANTAS. Lopes, F.C.**¹, Cavada, B.S.², Gomes, J.C.¹ Depto de Farmacologia, UNESP, Botucatu-SP¹ e Depto de Bioquímica e Biologia Molecular, UFC, Fortaleza-CE².

Introdução: Lectinas, como a concanavalina A (conA), são potentes ativadores de mastócitos e sua ação parece depender da presença de IgE na superfície destas células, da espécie e tecido considerados. Neste trabalho, estudamos a importância da presença de anticorpos e da espécie animal no efeito liberador de histamina induzido por diferentes lectinas.

Métodos: Mastócitos peritoneais de ratos *Wistar* (W) e *Rowett nude* (N) (imunodeficientes) foram obtidos por lavagem direta do peritônio. Os de bolsa jugal de hamster (H) e intestino de cobaia (C), por dispersão com colagenase. Médias de 3 a 9 experimentos são expressas em termos de porcentagem de liberação de histamina (LH) \pm EPM, descontando-se a liberação espontânea. Resultados: ConA, *Canavalia brasiliensis* (CB), *Cymbosema roseum* (CR), *Maackia amurensis* (MAA), *Parkia platycephalla* (PP) e *Triticum vulgare* (WGA) liberaram histamina de W e H. Em N, as lectinas ConA, CB e MAA foram ativas e em C nenhuma das lectinas liberou histamina.

	% LH					
	CR (10 μ g/ml)	ConA (100 μ g/ml)	MAA (100 μ g/ml)	CB	PP (300 μ g/ml)	WGA
W	29,1 \pm 7,9	26,9 \pm 7,5	23,8 \pm 6,4	21,0 \pm 5,3	17,2 \pm 3,8	10,7 \pm 3,8
H	16,9 \pm 1,7	11,9 \pm 2,2	22,3 \pm 5,5	15,0 \pm 1,2	13,1 \pm 3,4	10,5 \pm 1,6
N	2,7 \pm 1,7	16,1 \pm 7,1	29,8 \pm 6,5	22,8 \pm 7,8	1,2 \pm 0,5	3,7 \pm 1,9

Discussão: A LH induzida por lectinas não é necessariamente dependente da presença de anticorpos ligados à membrana dos mastócitos, sendo mais dependente do tipo de mastócito e da espécie animal. Apoio financeiro: CAPES.

04.116

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO ÁCIDO FERÚLICO SOBRE O EDEMA E INFLAMAÇÃO PERITONEAL INDUZIDA PELA CARRAGENINA EM CAMUNDONGOS. ¹Martins, R., ¹Teixeira, C., ¹Longhi, D.T., ¹Ballmann, J.D., ¹Scremin, A., ¹Paulino, N. 1. Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Biofarmacos, BIOFAR, Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão, SC.

Introdução: O ácido ferúlico (AF) é um componente natural de várias plantas medicinais e faz parte comum da rota de biosíntese de flavóides. Nosso objetivo é avaliar a atividade antiinflamatória do ácido ferúlico in vivo.

Métodos: Foram usados camundongos machos (25-30g, n=5) Os animais foram tratados via i.p. com salina, AF (10 ou 30mg/Kg) ou indometacina (1 mg/Kg), 20 minutos antes da indução do edema ou peritonite pela carragenina, 30 mg/pata ou 1mg/mL, respectivamente. No edema da pata o volume foi avaliado em 15, 30, 60, 120 e 240 min após a indução flogística. Na peritonite o volume de exudato (1mL) foi removido 4 h após a indução flogística. Foram analisados o número total de leucócitos, e o diferencial celular dos grupos de tratamento (AF 10 e 30mg/Kg) em comparação ao grupo salina.

Resultados: No edema de pata o AF 10 ou 30mg/Kg produziu 23 \pm 7,3% ou 32 \pm 9% de inibição

do volume da pata. Enquanto a Indometacina 10mg/Kg inibiu 75 \pm 9%. Na peritonite o AF 10 ou 30mg/Kg produziu inibição de 80 \pm 2,5% ou 57 \pm 3% da migração de células para o peritônio.

Discussão: O AF produziu efeito anti-edemato-gênico e antiinflamatório inibindo a migração celular para a cavidade peritoneal., este efeito pode estar associado a propriedade antioxidante deste composto.

Apoio: BIOFAR-UNISUL/Prodapys

04.117

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANALGÉSICA DO EXTRATO BRUTO HIDROALCOÓLICO DE Casearia sylvestris. Nilce Alves^{1,3}, Eduardo Mattos^{1,3}, Rodrigo R. Peters^{2,3}, Anna Paula Piovezan^{2,3}. ¹Alunos e ²Prof. do Curso de Farmácia – UNISUL, ³Pesquisadores do GRUPNAT/ Tubarão/ SC.

Introdução: Casearia sylvestris, também conhecida como erva-de-bugre, da família Flacourtiaceae, tem sido investigada por seu amplo uso popular, devido a possíveis propriedades antiinflamatória, antibiótica e cicatrizante, entre outras. Diante disso, empregou-se modelos farmacológicos de dor para investigar a capacidade do extrato bruto hidroalcoólico (EBHA) desta planta em promover analgesia em camundongos. Métodos: Camundongos suícos machos (ca. 30 g) foram avaliados nos modelos de dor induzida por formalina ou ácido acético. No primeiro caso, os animais receberam injeção intraplantar (i.pl.) de solução a 2,5% de formalina e foram observados por 30 min para o registro do tempo (s) que os mesmos despenderam lambendo a pata tratada. No segundo modelo, observou-se o número de contorções abdominais que os animais apresentaram nos 20 min seguintes à administração intraperitoneal (i.p) de solução a 0,6% de ácido acético. Para avaliar a atividade analgésica da Casearia sylvestris, diferentes grupos de animais foram tratados com o EBHA da planta por via i.p. (30 ou 100 mg kg⁻¹, 30 min antes) ou oral (30, 100 ou 300 mg kg⁻¹, 1 h antes) previamente aos estímulos nociceptivos. Resultados: O tratamento dos animais com EBHA de Casearia sylvestris reduziu significativamente a dor induzida por formalina (100 mg kg⁻¹; i.p.: 46% inibição da 1a. fase e 44% inibição da 2a. fase) ou por ácido acético (100 mg kg⁻¹; via i.p.: 81% inibição máxima ou 300 mg kg⁻¹; via oral; 80% inibição máxima). Discussão: O EBHA de Casearia sylvestris apresentou atividade analgésica em modelos de dor em camundongos. Apoio Financeiro: UNISUL

04.118

AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES ANTINOCICEPTIVAS DO FILICENO OBTIDO DA Adiantum Cuneatum. Ardenghi, J.V**., Cechinel, V.F**., Bresciani, L.F*., Yunes, R.A*., De Souza, M.M**., **- Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR)-CCS-UNIVALI-Itajaí-SC * -Departamento de Química - UFSC- Florianópolis-SC

OBJETIVOS: O presente trabalho analisa a possível atividade antinociceptiva do Filiceno composto obtido da *Adiantum Cuneatum* utilizando modelos de dor induzida pela formalina (2,5%)

(MF) e contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6%) (MAA). MÉTODOS: Foram utilizados camundongos Suícos fêmeas (25-35g, n=6-8), os quais receberam tratamento com o composto puro Filiceno (FIL= 6, 8, 10, 30, 60 e 100mg/Kg i.p) 30 min antes da administração da MF ou MAA e (100, 300 e 500mg/kg via oral) ou veículo 1 hora antes da administração do MAA. RESULTADOS E DISCUSSÕES: Quando avaliada a atividade antinociceptiva nas doses de (6-100 mg/kg i.p.), verificou-se a redução de forma significativa dose- dependente das contorções abdominais induzidas pelo MAA com IM (inibição máxima) de 96% . Também observou-se que o composto atua até 4 hs após sua administração com IM de 56% . No MF observou-se que o composto (10- 100mg/kg i.p.) foi eficaz nas duas fases da dor sendo mais efetivo na segunda (dor inflamatória) com IMs de (43,98% e 65,72%) respectivamente. Além disso, o Filiceno administrado via oral (100 - 500mg/kg), também foi eficaz no MAA, com inibição de 40,14% . Esses resultados indicam que o composto apresenta significativa atividade antinociceptiva. Estudos farmacológicos estão sendo realizados em nossos laboratórios para identificar o(s) possível (s) mecanismo (s) de ação antinociceptiva do Filiceno. APOIO FINANCEIRO: PIPG/UNIVALI

04.119

ANÁLISE PRELIMINAR DA AÇÃO ANTINOCICEPTIVA DA NIGA-ICHIGOSIDE OBTIDA DA *Rubus imperialis*. ARDENGHI, J.; Kanegusuko, M.; Niero, R. e De-Souza, M. Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas (NIQFAR)/CCS-UNIVALI.

Objetivos: O presente trabalho visa analisar os possíveis mecanismos da ação antinociceptiva da Niga-Ichigoside (NIG). Métodos: Camundongos fêmeas (25-35g, N=6-8), receberam tratamento com o composto puro NIG (60mg/Kg, i.p.), veículo e/ou drogas das vias em estudo e 30 min após foram submetidos ao modelo de dor induzida pela formalina 2,5%. Resultados e discussões: Quando avaliada a via dopaminérgica observou-se que o haloperidol (HA=0.5 μ mol/kg) reverteu o efeito antinociceptivo do composto nas duas fases da dor (NIG=4.25/3.78; HA+NIG=64.4/98.66). O mesmo perfil farmacológico foi obtido na via nitrérgica, a L-arginina (L-ARG= 600mg/kg) reverteu o efeito do composto (NIG=4.12/5.78; L-ARG+NIG=87.11/134.82). Na avaliação do sistema colinérgico observou-se que a atropina (ATR= 60mg/kg) reverteu o efeito antinociceptivo do composto apenas na segunda fase da dor (NIG= 38.16/0.33; ATR+NIG=20.8/17.6). Já na avaliação do sistema opióide o resultado verificado foi que a naloxona (NAL= 1mg/kg) reverteu o efeito antinociceptivo do composto nas duas fases da dor, (NiG=31.87/0.33; NAL+NIG=64.25/30.00). Entretanto, os antagonistas adrenérgicos seletivos yuibina (YOB,a 1) e prazosin (PRA a2) não reverteram o efeito antinociceptivo do composto em ambas as fases da dor (NIG=4.62/4.54; PRA+NIG=24.4/6.0; YOI+NIG= 6.0/0.16). Os resultados obtidos até o presente momento nos sugerem que o composto em estudo exerce sua ação antinociceptiva através das via dopaminérgica, oxidonitrérgica e opióide bem como atuando parcialmente nas via colinérgica. Apoio financeiro: PIPG, UNIVALI.

04.120

ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO LAPACHOL E DO ANÁLOGO SINTÉTICO ACETOGLICOLAPACHOL. Braggio, M. M.¹; Santos, A.L.²; Oliveira, M. M.; Lapa, A. J.². ¹Instituto Biológico, SP; ²depto. Farmacologia, Setor Produtos Naturais, EPM/UNIFESP, CEP 04044-020, SP.

Introdução: O lapachol (naftoquinona) isolado da *Tabebuia avellanedae* Lor., Bignoniaceae (Ipê-Roxo), é utilizado como antibiótico e antineoplásico (Santana e col. *Rev. Inst. Antib.* 20: 198, 1980). Em estudos anteriores mostramos que o lapachol (LAP) produziu efeito antinociceptivo nas contorções abdominais por ácido acético e no teste da placa aquecida (Braggio e col. *IV FeSBE, res.* 9.5, 217, 1989), confirmando o efeito analgésico relatado por pacientes com câncer tratados com o composto. A acetilglicolização do LAP (AGLAP) aumentou a lipossolubilidade e a absorção do composto, prolongando a sobrevivência de camundongos com leucemia P388, (Consolação e col. *J. Med. Chem.* 18:1159, 1975). Este trabalho comparou a atividade antinociceptiva do LAP e do AGLAP em camundongos.

Métodos e Resultados: O tratamento de ratos e camundongos com LAP ou AGLAP (0,1 a 0,5 g/kg, ip, e 0,5 a 2 g/kg, vo) produziu diminuição da atividade espontânea, ptose palpebral e ataxia proporcionais às doses. O LAP (50, 100 e 200 mg/kg, vo, 60 min antes) reduziu as contorções abdominais induzidas por ácido acético (0,8%; 0,1mL/10g, ip) de 48%, 58% e 71% do controle (C=58,0 ± 4,1 contorções acumuladas/30 min, n=10). No mesmo teste, doses iguais de AGLAP diminuíram as contorções de 24%, 46% e 57%, respectivamente. A indometacina (10 mg/kg, vo), controle positivo, inibiu as contorções de 44%. A administração de LAP (100, 150 e 200 mg/kg, vo, 60 min antes), aumentou a latência da reatividade ao estímulo térmico (tail-flick) de 22%, 30% e 47% (C=4,7 ± 0,2 s; n=8), respectivamente. Em doses iguais, o AGLAP aumentou a latência, nas duas maiores doses de 31% e 30%, respectivamente. O fentanil (0,1 mg/kg, sc, 30 min), controle positivo, aumentou a resposta de 158%. A naloxona (3 mg/kg, sc, 15 min antes) reverteu o efeito do fentanil, mas não o do LAP (200 mg/kg, vo) ou do AGLAP (300 mg/kg, vo). No teste da dor pela formalina (3%, 20 µL/intraplantar), o LAP (100, 150 e 200 mg/kg, vo, 60 min antes) reduziu a 1ª fase de 32%, 49% e 56% (C=117,1 ± 4,3 s), e a 2ª fase do teste de 61%, 71% e 72% (C=189,5 ± 17,9 s). Em doses iguais, o AGLAP reduziu a 1ª fase de 40%, 50% e 60%, e a 2ª fase de 59%, 63% e 68%, respectivamente. A indometacina (10 mg/kg, vo) inibiu somente a 2ª fase de 64%. Comparando-se os efeitos obtidos em função da concentração de LAP, os dois compostos não apresentaram diferenças significativas entre si.

Conclusão: Os resultados mostraram que LAP e AGLAP reduziram a dor neurogênica e inflamatória e que esta atividade antinociceptiva se deve ao lapachol.

Apoio Financeiro: CNPq, CAPES

04.121

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA E ANTIINFLAMATÓRIA DO COMPOSTO DE CORDENAÇÃO DO LAPACHOL COM ALUMÍNIO. ¹Cardoso, S.R., ¹Freccia, C., ¹Teixeira, C., ²Marcucci, M.C., ²Pereira, R.M.S., ¹Scremin, A., ¹Paulino, N. T. Grupo de Pesquisa e Desenvolvimento de Biofármacos, UNISUL, Tubarão, SC. 2. Universidade Bandeirante de São Paulo, São Paulo, SP.

Objetivos: Os compostos de cordenação com íons metálicos têm demonstrado inúmeras atividades biológicas. O objetivo do nosso trabalho é demonstrar a atividade antinociceptiva e antiinflamatória dos compostos de cordenação do lapachol com alumínio (LpAl) nos modelos de dor e inflamação em camundongos.

Métodos: Foram usados camundongos suíços (25-30g, n=6) tratados com salina, indometacina (10mg/Kg i.p.) ou LpAl (0,1, 1 ou 10mg/Kg i.p.), no modelo de dor induzidas pelo ácido acético e formalina, ou na peritonite induzida pela carragenina. Os valores foram expressos como média ± E.P.M. P<0,05 foram significantes.

Resultados: LpAl 0,1, 1 ou 10 mg/Kg (i.p.) produziram inibição da dor induzida pelo ácido acético com CI_{50} de 0,6±0,08mg/Kg, e no modelo da formalina com CI_{50} de 1,1±0,2mg/Kg. Do mesmo modo, LpAl nas doses de 10 ou 100mg/Kg, inibiram a migração de leucócitos na peritonite induzida por carragenina em 40±3 ou 85±4%, respectivamente.

Conclusões: Nossos resultados demonstram que o composto de cordenação Lapachol com alumínio produziu uma atividade antinociceptiva e antiinflamatória *in vivo*.

Apoio: BIOFAR-UNISUL/UNIBAN

04.122

EFEITO ANALGÉSICO DA RUTINA EM MODELOS EXPERIMENTAIS. Oliveira, MUF; Silva-Neto, IV; Nascimento, SB; Rocha, JCS; Rocha, FAC; Ribeiro, RA. Deptos. de Fisiologia e Farmacologia e de Medicina Clínica, Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará.

Introdução: A rutina (RT) é um flavonóide, composto polifenólico de origem vegetal, com possíveis ações antiinflamatórias ainda não completamente esclarecidas. Havíamos demonstrado que as contorções abdominais (Cas) induzidas por Zymosan (Zy) e Ácido Acético (Aac) eram dependentes da liberação de citocinas por macrófagos e mastócitos residentes (Ribeiro, RA et al., *Euro. J. of Pharmacol.*, 2000, 387, p111). Objetivos: Avaliar os efeitos da RT em modelos experimentais de nociceção. Métodos: Utilizaram-se os modelos de Cas induzida por Zy (1mg; ip) ou Aac (0,6%, ip) em camundongos Swiss e de incapacitação articular (IA) em joelho de ratos Wistar, induzida por Zy (1mg; ia). Os animais foram pré-tratados com RT 25 – 100mg/Kg ip na Cas e RT 50-200mg/Kg ip na IA 30min antes da indução por Zy ou Aac. Resultados: RT (25, 50 e 100 mg/kg; ip) inibiu de forma significativa (p < 0,01)

as Cas induzidas por Zy; (90,47%; > efeito) e por Aac (p < 0,05; 69,23%; > efeito). Inibiu também de forma significativa (p < 0,01; 3ªh) a IA nas doses de 50 e 100mg/Kg (47,61%; > efeito). Em adição, verificou-se que a RT não foi capaz de inibir de forma significativa o edema de pata induzido por carragenina (300µg ipl). Discussão: Os resultados indicam que a RT possui um potente efeito analgésico, pressupondo-se de ação periférica, possivelmente via inibição de mediadores hiperalgésicos liberados por células residentes.

Apoio financeiro: CNPq.

04.123

RESULTADOS PRELIMINARES DO MECANISMO DE AÇÃO DA PROPRIEDADE ANTINOCICEPTIVA DA QUERCETINA. Arnaldo Wilain Filho¹, Leonardo Olinger, Carina Panceira¹; Valdir Cechinel Filho¹ e De Souza¹ M.M.. - ¹ Universidade do Vale do Itajaí- UNIVALI/FAQFAR/NIQFAR-Itajaí/SC

Introdução: Resultados anteriores mostraram que o flavonóide quercetina exibe propriedade antinociceptiva em vários modelos de dor. O objetivo do presente trabalho foi o de estudar o mecanismo pelo qual tal atividade se desenvolve. Métodos: camundongos machos Swiss Webster (30g, N=6-8) foram submetidos ao modelo de dor induzida por ácido acético (AA/0.6%). Os animais foram pré-tratados com antagonistas adrenérgicos $\alpha 1$ /parazosin) e $\alpha 2$ /Yoimbina (0.15mg/Kg), antagonista opióide/naloxona (1.0mg/Kg), antagonista dopaminérgico/haloperidol (3mg/Kg) e L-arginina (0.75mg/Kg) 15 min antes da quercetina e 30 min do AA (0.1ml/10g peso). Controles com os agonistas das vias também foram feitos. Após administração do AA foi registrado o número de contorções de forma cumulativa por um período de 20 min. Resultados e Discussão o efeito analgésico da quercetina não foi revertido pelos tratamentos de: naloxona (3.33±1.8), L-arginina (4.12±0.43), haloperidol (4.66±5.4) e azosin (1.5±0.71) quando comparado aos seus respectivos controles (NA=44.8±1.6; L-ar= 38.6±4.8; HA= 63.6±5.4; Pra= 36.8±0.32), mas foi revertido pelo pré-tratamento de yoimbina (31.72±3.12/ YO=31.9±2.46). Até o momento, os dados obtidos ampliam achados anteriores sobre o efeito analgésico dos flavonóides e sugerem que das vias até aqui estudadas, a quercetina exerce seu efeito antinociceptivo através do sistema α -adrenérgico, via receptores $\alpha 2$ não tendo influência no sistemas opióide, dopaminérgico e oxidonitrérgico. Agradecimentos: Programa de bolsas PIPG da UNIVALI

04.124

EFEITO DOS FLAVONÓIDES RUTINA E QUERCETINA NA DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL EM RATOS. Teixeira, PAL; Lima, RVC; Cavalcante, MG; Menezes, AMA; Ribeiro, RA; Brito, GAC (Deptos. Fisiologia e Farmacologia, Morfologia-UFC)

Introdução: A periodontite é um processo inflamatório crônico que afeta os tecidos de proteção e sustentação do dente (periodonto) e caracteriza-se por infiltração leucocitária, perda progressiva do osso de suporte do dente, destruição do tecido conjuntivo e formação de bolsas. É considerada como sendo a principal doença responsável pela perda dentária em adultos. O objetivo desse trabalho é avaliar o efeito antiinflamatório dos flavonóides Rutina e Quercetina na Doença Periodontal Experimental em ratos. **Métodos:** Para a indução da Doença Periodontal foram utilizados ratos Wistar machos com peso entre 150-200g, inserindo um fio de sutura de náilon 3.0 em torno do segundo molar superior esquerdo do animal. Analisou-se os seguintes parâmetros: Estudo da reabsorção do processo alveolar pela sua medida morfométrica, estudo hematológico e análise da variação de massa corpórea para avaliação do efeito sistêmico da doença e do tratamento. **Resultados:** Rutina nas doses: 50, 100 e 200 mg/kg/ dia, mostrou-se capaz de prevenir a perda óssea de forma significativa ($p < 0,05$) em 30,5%; 29,64% e 30,9% respectivamente. Quercetina nas doses 0,25; 0,5 e 1 mMol/kg/dia, reduziu a perda óssea ($p < 0,05$) em 38,2%; 40% e 35% respectivamente. **Discussão:** O método de indução da Doença Periodontal testado foi capaz de reproduzir a perda óssea e a inflamação observada na Doença Periodontal em humanos. Embora o nosso trabalho tenha mostrado redução significativa do índice de perda óssea, novos estudos são necessários para a determinação do mecanismo de ação destas drogas neste modelo. (CNPq)

04.125

MECANISMOS ENVOLVIDOS NAS RESPOSTAS INFLAMATÓRIAS CAUSADAS PELO AGONISTA B1, des-Arg9-BK, NA PATA DE RATOS PRÉ-TRATADOS COM LPS. Passos, G.F., Fernandes, E.S., Campos, M.M., 1Souza, G.E.P., 2Teixeira, M.M., Calixto, J.B. Departamento de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC; 1Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, Ribeirão Preto, SP; 2Departamento de Imunologia, UFMG, Belo Horizonte, MG

Introdução: O presente trabalho analisa alguns dos mecanismos envolvidos nas ações inflamatórias causadas pelo agonista de receptor B1, a des-Arg9-BK (DABK) após tratamento tópico com LPS. **Métodos e Resultados:** Foram utilizados ratos machos Wistar (150-180g). A injeção intraplantar (i.pl.) de des-Arg9-BK (100 nmol/pata) produziu discreto edema (0,13 ml), enquanto que a injeção de LPS (1 microg, 6-72h, i.pl.) causou aumento tempo-dependente do edema à DABK e dos níveis da mieloperoxidase com pico em 12 h (cerca de 7 vezes). O antagonista B1, des-Arg9-Leu8-BK, inibiu significativamente o edema da DABK (43%). A dexametasona (18h antes) ou a cicloheximide (18h antes), inibiram o edema da DABK (45% e 55%). A fucoidina, inibidor de molécula de adesão e o anticorpo anti-CD18 foram capazes de antagonizar o edema da DABK (60% e 41%). Os anticorpos anti-IL-1beta ou anti-TNFalfa (12h) reduziram o edema à DABK (62 e 36%). O antagonista de receptores da IL-1, IRA (12h) ou a IL-10 (12h) inibiram o edema da DABK (55 e 36%). Finalmente, a expressão de TNFalfa e do receptor B1 foi também observada nas pa-

tas dos animais tratados com LPS. **Conclusões:** O tratamento local com LPS produziu aumento marcante do edema de pata mediado pelos receptores B1 para as cininas acompanhado do aumento da expressão do receptor B1 e de TNFalfa. Vários mecanismos incluindo a participação da síntese de novas proteínas sensível a cicloheximide e dexametasona, moléculas de adesão, e citocinas pró e antiinflamatórias estão relacionados com a regulação do receptor B1 das cininas após injeção de LPS. **Suporte financeiro:** CNPq, FINEP, PRONEX, PIBIC/Iniciação científica, CAPES

04.126

PAPEL MODULADOR DA GLUTAMINA NO EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA E DEXTRAN EM RATOS. Nascimento, SB¹; Sousa, RB¹; Martins, MJB¹; Ribeiro, RA¹; Brito, GAC². Deptos. de Fisiologia e Farmacologia¹ e Morfologia² da UFC

Introdução: A glutamina (Gln) é o aminoácido livre mais abundante no plasma. Porém, na vigência de trauma ou infecções há depleção de Gln, associada a alteração da função imune-inflamatória. Nesse contexto, a reposição de Gln assume papel terapêutico. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito da depleção seguida de reposição de Gln na resposta inflamatória utilizando o modelo do edema de pata. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar machos, divididos em 3 grupos: controle (salina), metionina-sulfoximina (MSO)- inibidor da síntese endógena de Gln, 25mg/kg ip 12h antes da indução do edema) e MSO/Gln (MSO 25mg/kg ip 12h antes da indução do edema + Gln 10mL/100mg de uma solução 200mM ip nos tempos 0, 6 e 12h). O edema foi induzido por injeção subplantar de 500µg de carragenina (Cg) ou 100µg de dextran (Dx) e aferido por pletismômetro 0, 1, 2, 3 e 4h após o estímulo. **Resultados:** Houve aumento significativo do edema induzido pela Cg no grupo depleto de Gln quando comparado ao grupo controle e ao grupo em que houve reposição de Gln (74,8% e 84,3%, respectivamente; $p < 0,05$). O mesmo não ocorreu no edema induzido por Dx. Os leucogramas não diferiram entre os diversos grupos. **Discussão:** A depleção de Gln potencia o edema de pata dependente de neutrófilos, sua reposição reverte esse efeito. O mesmo não ocorre em relação ao edema vascular dependente de liberação de mediadores pré-formados por mastócitos. Os dados sugerem que a glutamina tem um papel modulador no processo inflamatório e sua deprivação pode resultar na exacerbação da inflamação. **Apoio:** CNPq e CAPES.

04.127

SEROTONINA ESPINHAL INIBE INFLAMAÇÃO PERIFÉRICA VIA RECEPTORES 5-HT1 E 5-HT4. 1Daher, J.B., 2Tonussi, C.R. 1Depto. de Ciências Farmacêuticas, UEPG, Ponta Grossa, PR. 2Depto de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC.

Introdução. Sabe-se que fibras descendentes serotoninérgicas causam analgesia por inibirem os terminais centrais das fibras aferentes primárias finas. Desde que os impulsos nociceptivos che-

gando na medula espinhal induzem impulsos antidrômicos que aumentam o edema inflamatório periférico, decidimos avaliar o envolvimento do sistema serotoninérgico espinhal sobre o edema inflamatório periférico. **Métodos.** O edema inflamatório foi induzido pela injeção intraplantar de carragenina 300 ug/pata em ratos Wistar machos (150-180 g). O volume da pata foi medido por imersão da pata inflamada em uma cubeta cheia de água, adaptada sobre balança eletrônica. O peso registrado pela balança foi diretamente convertido em volume (densidade da água 1 g/mL). Agonistas ou antagonistas serotoninérgicos foram administrados por via intratecal, 30 min antes da injeção de carragenina. **Resultados.** Serotonina (0.1, 1, 10 pmoles and 10 nmoles) causou inibição gradual do edema inflamatório. O agonista 5-HT1B/1D sumatriptano (0.1, 1.0 and 10 nmol) também inibiu o edema. O agonista parcial 5-HT1/ 5-HT2 metisergida (1, 10 and 100 pmol) aumentou o edema, mas em doses nanomolares (2, 4 and 8 nmol) o diminuiu. O antagonista 5-HT3 ondansetrona (0.1, 1.0 and 10 nmol) não modificou o edema, mas o antagonista 5-HT3 / agonista 5-HT4 metoclopramida (0.1, 1.0 and 10 nmol) diminuiu o edema. **Conclusão.** Serotonina liberada na medula espinhal pode inibir o edema inflamatório, via receptores 5-HT1. O efeito potenciador da metisergida sugere que exista um papel inibitório tônico da serotonina endógena na medula espinhal durante a inflamação. Receptor 5-HT4, mas não 5-HT3, também podem estar envolvidos neste processo. **Apoio.** CAPES, CNPq

04.128

DOTARIZINA (DTZ) INIBE O EXTRAVASAMENTO PLASMÁTICO (EP) INDUZIDO PELA SUBSTÂNCIA P (SP), SEROTONINA (5-HT) E BRADICININA (BK) NA DURA-MÁTER (DM) DE RATOS. Moreira, D.M.; Frassetto, L.F.; Waltrick, P.T.; Souza, A.; Gabilan, N.H.; García, A.G.; Lopez, M.G.; Nicolau, M.; Depto. de Ciências Fisiológicas, CCB, UFSC, Florianópolis, SC.

Objetivos: O EP e a vasodilatação na DM constituem a base fisiopatológica da enxaqueca. A DTZ, um bloqueador dos canais de Ca²⁺, é um derivado piperazínico com possível propriedade anti-enxaqueca. Este estudo propõe-se a avaliar a ação da DTZ no EP induzido pela SP, 5-HT e BK na DM de ratos. **Métodos:** O EP, avaliado na DM, foi mensurado usando a técnica do corante Azul de Evans, quantificado por espectrofotometria (620 nm) e expresso como mg/g de tecido seco. **Resultados:** Um aumento significativo do EP em relação ao controle na DM foi observado com a administração de SP 10 nmol/Kg i.v. (51,6 ± 1,8 para 83,9 ± 3,6), de 5-HT 100 e 300 nmol/Kg i.v. (51,6 ± 1,8 para 64,0 ± 2,4 e 83,9 ± 3,0 respectivamente) e de BK 3,0 nmol/Kg i.v. (51,6 ± 1,8 para 77,2 ± 3,9). A DTZ 100 nmol/kg i.v. antagonizou significativamente o aumento do EP na DM induzido pela SP (83,9 ± 3,6 para 54,5 ± 2,0), pela 5-HT 300 nmol/Kg i.v. (83,9 ± 3,0 para 54,9 ± 2,9) e pela BK 3,0 nmol/Kg i.v. (77,2 ± 3,9 para 51,5 ± 2,3). **Conclusão:** A DTZ inibiu significativamente o EP induzido pela SP, 5-HT e BK na DM. Estes dados sugerem que este derivado piperazínico poderia ser efetivo como agente anti-enxaqueca. **Apoio:** Lab. Ferrer, Barcelona, Espanha; CAPES; CNPq.

04.129

EFEITO DO CAPTOPRIL (CAP) SOBRE O EXTRAVASAMENTO PLASMÁTICO (EP) INDUZIDO PELA BRADICININA (BK) NA DURA-MÁTER (DM) DE RATOS. Sousa, A.; Frassetto, L.F.; Moreira, D.M.; Waltrick, P.T.; Gabilan, N.H.; Nicolau, M.; Depto de Ciências Fisiológicas, CCB, UFSC, Florianópolis, SC.

Introdução: A BK aumenta o EP na DM. Neste trabalho, procurou-se avaliar a influência do CAP neste efeito. Métodos e resultados: Utilizou-se ratos wistar machos (200-300g), anestesiados com nembital (40mg/Kg.i.p.). Fez-se a avaliação do EP, pela técnica do corante azul de Evans (AE), determinado por espectrofotometria (620nm) expresso em mg/g de tecido seco. Doses crescentes de BK foram administradas com AE em animais controle e pré-tratados com CAP. Os animais foram sacrificados 10 min. após a injeção de BK e AE, seguido de perfusão com 60 ml de salina por 3 min. via ventrículo esquerdo, em seguida dissecou-se a DM. A injeção de BK (0,3; 1,0; 3,0 e 10 nmol/Kg.i.v.) induziu um aumento significativo do EP na DM de $50,2 \pm 1,50$ para $74,9 \pm 4,4^*$; $90,7 \pm 6,8^{**}$; $86,1 \pm 4,2^{**}$; $70,7 \pm 2,4^*$, respectivamente. Nos grupos tratados apenas com CAP (10 e 100 nmol/Kg.i.v.), verificou-se aumento no EP de $50,2 \pm 1,5$ para $72,5 \pm 6,3^*$; $73,5 \pm 3,8^*$, respectivamente. Em ratos tratados com CAP 10 e 100 nmol/Kg o EP induzido pela BK 0,3 nmol/Kg aumentou de $74,9 \pm 4,4$ para $77,0 \pm 4,4$ e $81,6 \pm 9,8$, respectivamente. A significância está representada por: $*p < 0,05$ e $**p < 0,01$ em relação ao controle. Discussão: A BK aumenta o EP na DM de modo dose-relacionada. Na maior dose, observou-se uma dessensibilização deste efeito. O CAP aumenta o EP na DM por possível acúmulo de BK. A injeção de BK em animais tratados com CAP, aumentou o EP induzido pela BK, embora não significativa, provavelmente por dessensibilização dos receptores da BK. Apoio financeiro: PIBIC/CNPq, CAPES.

04.130

ANTAGONISTA DO RECEPTOR NK-1 (RP 67,580) BLOQUEIA O EXTRAVASAMENTO PLASMÁTICO (EP) INDUZIDO PELA BRADICININA (BK) EM TECIDOS DE RATO. Frassetto, L.F.; Moreira, D.M.; Nicolau, M.; Dovichi, S.S.; Depto. de Ciências Fisiológicas, CCB, UFSC, Florianópolis, SC.

Objetivos: Em tecidos onde ocorre a inflamação neurogênica, a BK é capaz de liberar substância P (SP) (Figini e cols., v272, p.785,1997). Trabalhos recentes demonstram que a quercetina (Q), um flavonóide, provoca acúmulo de BK por inibição da enzima conversora da angiotensina (ECA). O propósito deste estudo foi o de verificar se a potencialização do EP induzida pela BK em animais tratados com quercetina envolve a liberação de SP. Métodos e Resultados: A avaliação do EP foi feita pela técnica do corante azul de Evans, determinado por espectrofotometria (620nm) e expresso em mg/g de tecido seco. A BK (3 e 10nmol/kg.i.v.) aumentou o EP de modo dose-relacionado no duodeno, pâncreas, traquéia e bexiga. A Q (20mg/kg.v.o.) potencializou significativamente o EP induzido pela BK no duode-

no, coração e traquéia. O pré-tratamento com o antagonista de receptor B₂, HOE 140 (10nmol/kg.i.v.) reduziu significativamente o aumento do EP induzido pela BK e potencializado pela Q no duodeno, coração, pâncreas e traquéia. O pré-tratamento com o antagonista de receptor NK-1, RP 67.580 (10nmol/kg.i.v.), reduziu significativamente o EP induzido pela BK em animais pré-tratados com Q no duodeno, coração e traquéia. Conclusões: A Q potencializou o EP induzido pela BK por causar acúmulo deste peptídeo, uma vez que o HOE 140 inibiu este efeito. A BK estimulou a liberação de SP nas terminações nervosas peptidérgicas aumentando o EP, considerando que o antagonista seletivo do receptor NK-1 reduziu este efeito. Apoio financeiro: CAPES, CNPq-PIBIC.

04.131

COMPARAÇÃO DO EXTRAVASAMENTO DE AZUL DE EVANS INDUZIDO POR NEUROPEPTÍDEOS EM PELE E POLPA DENTAL DE RATOS. K.L.M. Maltos, D. Ferreira-Alves and J.N. Francischi. Departamento de Farmacologia - ICB/UFMG, Belo Horizonte, Brasil, CEP 31270-901.

Introdução: A substância P (SP) e CGRP (calcitonin-gene related peptide) são reconhecidos pelas suas propriedades vasodilatadoras e de aumento de permeabilidade vascular. Nosso objetivo foi comparar o extravasamento do azul de Evans em resposta a esses neuropeptídeos injetados na pele e polpa dental de ratos (Holtzman, machos) previamente anestesiados. Método: Diferentes doses de SP, CGRP (nmoles) ou salina fisiológica, distribuídas em quadrado latino, foram injetadas intradermicamente (id) na pele do dorso dos animais (0.1 mL/sítio, tempo zero). Nos dentes, preparos cavitários foram realizados nos primeiros molares superiores do lado esquerdo e a polpa exposta a diferentes doses de SP e CGRP durante 5 minutos e depois seladas (1 µL/sítio, tempo zero). Os primeiros molares contralaterais serviram de controle. A injeção do corante diluído, 1 % no estudo da pele e 5 % no estudo da polpa dental, foi realizada no plexo venoso peniano (0.1 mL/100g animal) quinze minutos antes da administração dos agonistas. Após 10 min dessa administração, os animais foram sacrificados, os sítios azuis da pele e os dentes retirados e extraídos em formamida a 37°C por 24 horas, sendo lida a absorbância dos sobrenadantes em colorimento padrão (623 nm). Resultados: Na pele, o CGRP foi 23 vezes mais potente do que a SP. Na polpa dental, o CGRP apresentou igual atividade e SP não induziu extravasamento significativo. Conclusões: ratos Holtzman são mais sensíveis ao CGRP que a SP com relação ao aumento da permeabilidade vascular. Apoio: CNPq, FAPEMIG, CAPES

04.132

MELATONIN EFFECT ON VASCULAR PERMEABILITY. Cintia E. Yamashita¹, C.M.C. Lotufo¹, S.H.P. Farsky², Regina P. Markus¹ ¹Laboratório de Cronofarmacologia, Instituto de Biociências-USP, São Paulo, Brazil. ²Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas-USP, São Paulo, Brazil.

Introduction- We recently found that activation of melatonin receptors inhibit the leukocyte recruitment and have no effect on arteriolar diameter during acute inflammation. Aim- Verify melatonin effects on inflammatory vascular permeability increase. Methods- Vascular permeability was measured by Miles assay. High melatonin doses (10 mg/ animal, i.p) were injected 40 min before intradermic injections of 60 µl of carrageenin (0,5%), bradykinin (100 ng), histamine (1 µg) or serotonin (20 ng). Low melatonin doses (1nM) were injected locally together with the chemotactic agents leukotriene B₄ (6 µM) or fMLP (10 µM). Thereafter, Evan's Blue (200 µl, 3 %, i.v.) was injected. Animals were sacrificed after 30 min and the dye was quantified by formamide extraction and spectrophotometry. Results- Systemic melatonin inhibited by 45 ± 12 % the effect of carrageenin, but had no effect on bradykinin, histamine and serotonin response. Low melatonin dose (1 nM), injected locally, inhibits leukotriene B₄ (22 ± 8.4 %) but not carrageenin induced increase in vascular permeability. Melatonin has no effect or even increase the fMLP induced increase in vascular permeability. Conclusion- These results indicate that melatonin modulates vascular permeability by different mechanisms. At high doses melatonin probably inhibits the release or production of inflammatory agents while at low doses it decreases LTB₄ induced vascular permeability by reducing leukocyte recruitment.

Financial support: FAPESP, CMCL, CY and RPM are FAPESP or CNPq fellow.

04.133

BOSENTAN INIBE AUMENTO DE PERMEABILIDADE PULMONAR INDUZIDO POR LPS EM CAMUNDONGOS. Trentin, P.G.; Guimarães, C.L.; Rae, G.A., Deptos. de Farmacologia, UFSC, Florianópolis e FURB, Blumenau, SC, Brasil.

Objetivos: A injúria pulmonar associada à SARA (Síndrome da Angústia Respiratória do Adulto) tem diversas etiologias, entre elas a sepse. O aumento da permeabilidade vascular pulmonar induzido por ácido oléico em camundongos, um modelo animal de SARA, é inibido pelo bosentan, um bloqueador misto de receptores ETA e ETB para endotelinas (ETs; Guimarães et al. J Cardiovasc Pharmacol. 36(Suppl 1): S371, 2000). Este estudo avalia se as ETs medeiam a injúria pulmonar causada por LPS nesta espécie. Métodos e Resultados: Camundongos suíços machos (35 a 40 g) receberam azul de Evans (AE, 50 mg/kg, i.v.) 1 h antes da aplicação de bosentan (30 mg/kg, i.v) ou veículo (salina estéril, i.v.). Após 30 min, foi realizada instalação intratraqueal de LPS (E. coli 055:B5, 20 µg). Os animais foram sacrificados 6 h depois e perfundidos pelo coração com 10 ml de salina. Os pulmões foram dissecados, pesados, secados em estufa (40°C por 24 h), pesados de novo e macerados em formamida (60°C por 48 h) para extração do corante. O teor total de AE (em µg) foi estimado por espectrofotometria (620 nm). O LPS elevou o teor de AE nos pulmões de $8,4 \pm 1,0$ µg (veículo) para $19,72 \pm 0,8$ µg ($P < 0,05$; ANOVA e Student-Newman-Keuls). O bosentan não alterou os valores basais de AE ($10,3 \pm 0,3$ µg), mas reduziu o acúmulo de AE em pulmões de animais tratados com LPS ($10,4 \pm 0,5$ µg).

Conclusão: As ETs endógenas tem papel crucial no aumento do extravasamento vascular pulmonar causado por LPS em camundongos. Os papéis de receptores ETA e ETB na injúria estão sendo investigados.

Apoio Financeiro: CNPq.

04.134

O BLOQUEIO FARMACOLÓGICO DA CICLOOXYGENASE RETARDA O "CLEARANCE" DO EXUDATO ALÉRGICO PLEURAL EM RATOS ATIVAMENTE SENSIBILIZADOS. Rossi, MID; Lima, MCR; Silva, PMR; Cordeiro, RSB & Martins, MA. Laboratório de inflamação. IOC/FIOCRUZ, RJ, Brasil.

INTRODUÇÃO: Estudos recentes sugerem que derivados prostanoídes teriam um papel crucial na resolução da inflamação aguda. O objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da inibição da enzima ciclooxigenase (COX) sobre a fase resolútiva da resposta inflamatória alérgica. **METODOLOGIA E RESULTADOS:** Ratos Wistar foram sensibilizados com uma mistura de ovoalbumina (OVA) e Al(OH)₃ injetada subcutaneamente, sendo desafiados através da estimulação pleural de OVA (12 µg/cavidade) 21 dias depois. O inibidor dual COX-1 e -2 indometacina (INDO, 2 mg/kg, i.p.) ou o COX-2 seletivo SC236 (0,5 mg/kg, i.p.), administrado 1 h antes e 7 h após o desafio antigênico, aumentou em 100 e 56 %, respectivamente, o total de proteína recuperado no lavado pleural em 24 h, quando comparado a animais não tratados. O efeito da droga SC236 foi revertido quando coadministrou-se o agonista prostanoíde misoprostol (200 mg/kg, p.o.). Um aumento de 52% foi ainda observado em 48 h quando o tratamento com INDO estendeu-se nos tempos de 19 e 31 h após o desafio, mas a diferença desaparece quando a droga não foi administrada no último tempo. O tratamento com INDO não modificou a cinética de aumento na permeabilidade vascular causado pelo desafio antigênico, como atestado pelo ensaio clássico de extravasamento de azul de Evans. **CONCLUSÃO:** A inibição da COX através do tratamento com indometacina ou SC236 retarda o "clearance" do exudato pleural induzido por estimulação alérgica. **SUPORTE:** CNPq e FAPERJ

04.135

AÇÃO DA LIDOCAÍNA SOBRE A CONTRAÇÃO DO MÚSCULO LISO INTESTINAL, ESPASMO TRAQUEAL E EXTRAVASAMENTO PLASMÁTICO CUTÂNEO CAUSADO POR ALERGENO. 1Silqueira, R.A.; 1,2Neves, J.S.; 1Azevedo, V.V.; 1Costa, J.C.S.; 1Silva, P.M.R. e 1Martins, M.A. 1Depto de Fisiologia e Farmacodinâmica, IOC, FIOCRUZ - RJ., 2Depto. de Farmacologia Básica e Clínica, ICB, UFRJ-RJ

Introdução: O aerossol de lidocaína tem sido proposto como uma forma alternativa de tratamento da asma atópica devido a sua ação supressora sobre a função de eosinófilos (Okada et al., 160, 4010, 1998) e linfócitos Th2 (Tanaka et al., 109, 485, 2002). Neste estudo, investigou-se a ação da lidocaína sobre outros fenômenos de hipersensibilidade alérgica, incluindo os espasmos intestinal e traqueal e o aumento da permeabili-

dade vascular cutânea (APVC) induzidos por antígeno. **Métodos e Resultados:** Fragmentos isolados de íleo e anéis de traquéia obtidos de cobaias sensibilizadas foram mantidos imersos em líquido nutritivo e conectados a transdutores isotônicos e isométricos, respectivamente. As preparações foram submetidas à tensão de 1g sendo posteriormente estimuladas com ovoalbumina (10 µg/mL) e/ou histamina (5x10⁻⁶M). O APVC foi avaliado na região dorsal de ratos sensibilizados após injeções intradérmicas de antígeno (12µg/sítio) ou histamina (9µg/sítio), sendo o extravasamento plasmático estimado pela quantificação de azul de Evans extraído do sítio desafiado. A lidocaína inibiu a contração do íleo induzida por estímulo antigênico (IC₅₀= 1,43mM, n=3) bem como aquela induzida por histamina (IC₅₀= 1,41 mM, n=3). Observou-se, ainda, relaxamento concentração dependente de traquéias pré-contraídas por estimulação antigênica (IC₅₀=5,8 mM, n=3), além de bloqueio do APVC induzido por estimulação alérgica (IC₅₀= 0,02µmol/sítio) e histamina (IC₅₀=0,17µmol/sítio). **Discussão:** Lidocaína pode inibir o extravasamento plasmático além de prevenir e reverter o espasmo muscular anafilático, mecanismo associado a uma regulação negativa direta sobre alvos como o endotélio vascular e o músculo liso. **Apoio Financeiro:** CNPq, FAPERJ, CAPES.

04.136

EFEITO DO ANETOL E SEU ANÁLOGO 1-METOXI-4-(1,2-DIHIROXIPROPANO)-BENZENO (DIOL-ANETOL) SOBRE A PERMEABILIDADE VASCULAR EM CAMUNDONGOS. Freire, R.S.1; Pinheiro, D.C.S.N.2; Morais, S.M.3 1Mestrado em C. Fisiológicas/UECE; 2FAVET/UECE; 3Dep. de Química e Física / Laboratório de Tecnologia em Química/UECE.

Introdução: O trans-Anetol é usado na indústria alimentícia como flavorizante. É o maior componente volátil do anis e está presente no óleo essencial de Croton zenthineri, cuja atividade antiinflamatória foi recentemente relatada. Este trabalho tem como objetivo sintetizar análogo do trans-anetol e avaliar seus efeitos sobre a permeabilidade vascular. **Métodos:** A síntese do análogo do trans-anetol foi realizada por reação de epoxidação. O Anetol e uma mistura (1:1) de diâsteros isômeros do seu análogo Diol-Anetol foram administrados por v.o. aos grupos testes (n=5) nas doses de 30 e 300mg/Kg. Os grupos controles receberam por v.o. salina ou DMSO 2% veículo, ou indometacina (10 mg/kg), como referência. Uma hora após o tratamento, os animais receberam uma solução de azul de Evan a 1%, por via e.v., e 10 min após ácido acético 0,5% por via i.p. e 20 min após os animais foram sacrificados e a cavidade peritoneal foi lavada com água destilada. O líquido corado recuperado foi medido em espectrofotômetro a 590 nm. **Resultados:** Os Resultados em percentagem de inibição foram respectivamente: Anetol 30mg/Kg 51%, 300mg/Kg 5%, Diol-anetol 30mg/Kg 19%, 300mg/Kg 61%. Indometacina 57%, salina e veículo 0%. **Discussão:** A permeabilidade vascular foi inibida pelo trans-anetol (30 mg/kg) e por seu análogo, Diol-Anetol (300 mg/Kg). Ao contrário do anetol, seu análogo induziu um efeito dose dependente. Devido às mudanças realiza-

das na estrutura do anetol, sugere-se uma relação estrutura atividade. **Financiadores:** CAPES e FUNCAP

04.137

EFEITO DA PROTOPORFIRINA IX, POSSÍVEL AGONISTA ENDÓGENO DE RECEPTOR BENZODIAZEPÍNICO PERIFÉRICO, NO MODELO DE ARTRITE CG-LPS EM RATOS. Bressan, E., Farges, R.C., #Nakagaki, S., Tonussi, C.R. Depto. de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC. #Depto. de Química, UFPR, Curitiba, PR.

Introdução: A protoporfirina IX é tida como ligante endógeno do receptor benzodiazepínico periférico (PBR). Os agonistas sintéticos de PBR, PK11195 e RO5-4864, aplicados sistemicamente apresentam efeito anti-nociceptivo e anti-edematogênico no modelo de artrite induzida por carragenina-lipopolissacarídeo. Neste trabalho, analisamos o efeito da injeção local de protoporfirina IX e PK 11195. **Métodos.** Ratos wistar machos (200-250g) receberam injeção de carragenina (300 µg) e 72 h após, LPS de E. coli (30 ng). A nocicepção inflamatória foi avaliada por meio do registro da incapacitação articular (tempo de elevação da pata, durante 60 s de deambulação forçada) e o edema foi quantificado por meio da medida do diâmetro articular e expresso com variação do diâmetro articular (DA) em cm. **Resultados.** Protoporfirina IX (PPIX; 2,5, 5 e 10 pmoles) ou PK 11195 (PK; 30 pmoles) foram aplicados por via intra-articular, 1 hora antes do LPS. Nenhum dos dois tratamentos causaram efeito sobre a nocicepção articular, porém a PPIX 10 pmoles (DA= 0,12 ± 0,01 cm) e o PK (DA= 0,10 ± 0,02) reduziram o edema articular significativamente em relação ao grupo controle, que recebeu apenas salina (DA= 0,18±0,01 cm). Valores registrados na 6ª hora (pico do edema articular), porém todos os pontos dos grupos tratados foram menores que o controle. **Conclusões.** A PPIX exerce efeito inibitório similar ao PK 11195 sobre o edema articular inflamatório. Porém, as duas substâncias não reproduziram o efeito anti-nociceptivo observado para a aplicação sistêmica dos ligantes de PBR. **Apoio.** PIBIC-UFSC, CNPq

04.138

INVESTIGAÇÃO DOS NÍVEIS DE FOSFATASES E TRANSAMINASES NO PLASMA E NO FÍGADO DE RATOS ARTRÍTICOS. Silva, M.A.R.C.P.; Silva, E.R.; Caparroz-Assef, S.M.; Cuman, R.K.N.; Kimura, E.; Bersani-Amado, C.A. Laboratório de Inflamação, Universidade Estadual de Maringá-Pr.

INTRODUÇÃO: Estudos clínicos demonstram a eficácia da associação metotrexato-cloroquina (MTX-CQ) no tratamento da artrite e na redução dos efeitos hepatotóxicos provocados pelo MTX. No entanto, não é conhecido o mecanismo de interação entre estes fármacos, sendo o mesmo alvo de muitas pesquisas. **OBJETIVO:** Investigar os níveis de transaminases (ALT, AST) e fosfatases (ácida e alcalina) no plasma e no fígado de ratos artríticos controles e tratados com as drogas. **MÉTODOS:** A artrite foi induzida em ratos Holtzman pela injeção intraplantar de adjuvante completo de Freund. Os animais foram divididos em

grupos: Normais (N); Artríticos (A); Artríticos tratados com MTX (6mg/kg/semana,ip); com CQ (50mg/kg/dia,vo) e com MTX-CQ. Após o tratamento (21 dias) os animais foram sacrificados, o sangue e o fígado coletados para a determinação enzimática. RESULTADOS: Os níveis de fosfatase ácida aumentada no plasma dos A foi corrigido pelo tratamento com MTX-CQ (N=32; A=54; MTX=46; CQ=41; MTX-CQ=28U/L). Os níveis de ALT reduzida no plasma (N=67; A=49; MTX=54; CQ=57; MTX-CQ=77 U/L) e no fígado dos A (N=55; A=38; MTX=39; CQ=48; MTX-CQ=57U/g) também foi corrigido. O nível de fosfatase alcalina não alterado no plasma dos A estava aumentado após o tratamento (N=168; A=162; MTX=218; CQ=199; MTX-CQ=233U/L). O mesmo não ocorreu no fígado (N=0,5; A=1,4; MTX=1,4; CQ=1,2; MTX-CQ=1U/g). CONCLUSÃO: O tratamento com MTX-CQ reverte algumas alterações induzidas pela artrite e pelo MTX. No entanto, pode causar alterações importantes em outros órgãos.

04.140

SISTEMA SIMPÁTICO PARTICIPA NA INCAPACITAÇÃO ARTICULAR (IA) E INFLUXO CELULAR (IC) DA ARTRITE INDUZIDA POR ZYMOZAN (AZy) EM RATOS. ¹Rocha, JCS, ¹Brito, GAC, ¹Ribeiro, RA, ²Rocha, FAC. Deptos de Fisiologia e Farmacologia¹, Med. Clínica² – UFC-CE

Objetivo: estudar a participação do sistema simpático na IA e IC da AZy em ratos. Métodos: ratos Wistar receberam injeção de Zy 1 mg intra-articular no joelho direito. A IA foi medida na 3^a e 4^a h da AZy. O IC foi avaliado no lavado articular colhido na 6^a h após indução da AZy. Grupos foram previamente tratados com guanetidina (GNTD - depletor do sistema simpático) na dose de 30 mg kg⁻¹ i.p. durante 3 d antes da AZy. Propranolol (PPNL – antagonista β-adrenérgico) foi administrado na dose de 100 µg kg⁻¹ s.c. 1 h antes ou 2 h após a indução da AZy. Resultados: o tratamento prévio com PPNL reduziu a IA em 30,6% (p<0,05) enquanto o tratamento após a indução da AZy reduziu a IA em 50,5% (p<0,05). O IC foi reduzido para 2.1±0.2 x 10³/mm³ (p<0,05) apenas quando o tratamento foi feito antes da indução da AZy. A administração prévia de GNTD reduziu a IA em 45,4% (p<0,05) e o IC para 1.8±0.1 x 10³/mm³ (p<0,05). Conclusão: o sistema simpático participa na incapacitação articular e influxo celular na artrite induzida por zymosan em ratos. Apoio: Capes, CNPq.

04.141

EFEITO DE ANTAGONISTAS DE LEUCOTRIENO NA ARTRITE POR ZYMOZAN (AZy). ¹Rocha, FAC, ²Girão, VCC, ²Bezerra, MM, ³Cunha, FQ, ²Ribeiro, RA, ⁴Teixeira, MM. Dep. Medicina Clínica¹, Fisiologia e Farmacologia² (UFC), Farmacologia³ (FMRP-USP) e Instituto de Ciências Biomédicas⁴ (UFMG).

Introdução: A AZy apresenta Influxo Celular (IC), com predomínio de neutrófilos na fase aguda, incapacitação articular (IA) e liberação de NO. Neste estudo, investigamos o papel de um antagonista de leucotrieno B₄ (CP-105,696) ou de leucotrienos peptídicos (Montelucaste Sódico - MT)

na AZy. Métodos: Ratos Wistar foram submetidos à injeção intra-articular (ia) de Zymosan (1mg) no joelho direito. A IA foi avaliada pelo teste de IA para ratos entre a 3^a e 4^a hora da AZy e expressa como tempo de suspensão da pata (TSP), em segundos (s). Após 6h, avaliou-se no lavado articular: IC (cél/mm³). Grupos receberam CP (3 mg/kg-v.o 30 min antes e 2h após Zy) e MT (10 mg/kg-v.o) 30 min antes e 2 horas após Zy. Controles (CT) receberam uma solução do veículo (carboximetilcelulose). Resultados: CP e inibiu a IA (p<0,05) (TSP=15±1,9 s), comparado ao CT (TSP=25±1,4s). CP e MSD não reduziram (p>0,05) o IC (12667±2995 e 10570±2474 células/mm³), comparado ao CT (8862±2062). Discussão: O LTB₄ está envolvido na dor inflamatória articular. Leucotrieno participa da liberação de NO na AZy. Apoio: FUNCAP.

04.142

ESTUDO DA PARTICIPAÇÃO DE AUTACÓIDES (HISTAMINA E SEROTONINA) NA INCAPACITAÇÃO ARTICULAR (IA) E INFLUXO CELULAR (IC) NA ARTRITE INDUZIDA POR ZYMOZAN (AZy) EM RATOS. ¹Rocha, JCS, ²Siebra, MX, ¹Brito, GAC, ¹Ribeiro, RA, ²Rocha, FAC. Deptos de Fisiologia e Farmacologia¹, Med. Clínica² – UFC-CE

Objetivo: estudar a participação das aminas biogênicas (histamina e serotonina) na IA e IC da AZy em ratos. Métodos: ratos Wistar receberam injeção de Zy 1mg intra-articular no joelho direito. A IA foi medida na 3^a e 4^a h da AZy. O IC foi avaliado no lavado articular colhido na 6^a h após indução da AZy. Grupos foram tratados com: Metisergida (MTSG - antagonista dos receptores da serotonina) 1 h antes da AZy ou 2 h após a indução da AZy, na dose de 0,5 mg kg⁻¹ i.p.; Mepiramina (MPRM - antagonista dos receptores H₁ da histamina) 1 h antes da AZy na dose de 6 mg g⁻¹ i.p.); Cimetidina (CMTD - antagonista dos receptores H₂ da histamina) 1 h antes da indução da AZy na dose de 50 mg kg⁻¹ v.o.; composto 48/80 (C48/80 - depletor de mastócitos) na dose de 0,6 mg kg⁻¹ i.p. a cada 12 h durante 3 d seguida de mais 1,2 mg kg⁻¹ i.p. a cada 12 h no 4^o dia. Controles (CT) receberam salina. Resultados: a administração prévia de CMTD ou MPRM não reduziu a IA ou o IC na AZy. MTSG reduziu a IA em 37,1% e 40,9%, para o tratamento prévio ou após a indução da AZy, respectivamente (p<0,05). O IC foi reduzido para 1.6±0,5 x 10³/mm³ apenas no grupo tratado após indução da AZy (p<0,05). O composto 48/80 reduziu a IA em 43,8% em relação ao grupo não-tratado (NT). Conclusão: serotonina participa da IA e IC da AZy. Apoio: Capes, CNPq.

04.143

COMPARAÇÃO DA HIPERALGESIA INDUZIDA PELO SOBRENADANTE (SOB) DA CULTURA DE CÉLULAS MONONUCLEARES EM RATOS ARTRÍTICOS E RATOS NORMAIS. Romualdo VA, Pereira LSM, Yokoro CM, Reis WGP, Francischi JN-Dept^o Farmacologia-ICB-UFMG, Belo Horizonte-MG

INTRODUÇÃO: Foi mostrado que o SOB de cultura de células mononucleares de ratos incubadas com carragenina (Cg) induzem hiperalgisia

e edema na pata de ratos. Nesse trabalho, verificamos se a hiperalgisia de células mononucleares de ratos artríticos (A) é semilar àquela de leucócitos de ratos normais (C), sob as mesmas condições.

MÉTODOS: Ratas Holtzman com peso de 140-180 gramas foram utilizadas. Artrite foi induzida no dia zero pela injeção subcutânea de 0,2 ml de emulsão óleo-água contendo 400 µg de *M. butyricum*, nos controles foi injetado igual volume da emulsão, sem o *Mycobacterium*. No 14^o dia de indução da artrite o sangue dos animais foi coletado por punção cardíaca. Leucócitos mononucleares foram purificados por gradiente de centrifugação (Histopaque1083), contados e incubados em placas de cultura com 250 µg de Cg/poço por 2 horas a 37^o C, em estufa sob CO₂. O SOB das culturas-teste e controle (sem Cg) foram coletados e congelados (-15^oC) até o momento das injeções intraplantares (0,1 ml/pata). O desenvolvimento de hiperalgisia, nas próximas 24 h, foi medido pelo método de Randall-Selitto. RESULTADOS E DISCUSSÃO: A hiperalgisia induzida pelo SOB de animais artríticos foi significativamente maior do que a induzida pelo SOB de animais controle, da 1^a à 3^a h de observação (3^ah A=80,7±3,6; C=66,9±3,8 p=0,01, test t de Student). É possível que a resposta hiperalgésica aumentada dos ratos artríticos esteja relacionada com uma maior atividade dos linfócitos ou ao número aumentado de neutrófilos nas culturas. APOIO: FAPEMIG, CNPq e CAPES

04.144

EFEITO DE UM POLISSACARÍDEO DE ALTO PESO MOLECULAR NA ARTRITE POR ZYMOZAN(AZy). 1Castro,RR; 2Siebra, MX; 3Cunha, PRL; 3Feitosa, JPA; 2Rocha, FAC; Dep. Fisiologia e Farmacologia¹, Med.Clinica², e Depto. Química Orgânica e Inorgânica³ (UFC).

Introdução: O uso de polissacarídeos de alto peso molecular (viscossuplementação) tem sido usado como tratamento em osteoartrose. Embora promovam analgesia prolongada, os mecanismos desse efeito não estão esclarecidos. Recentemente, caracterizamos um composto polissacarídeo (PGG) com características semelhantes ao hialano, o agente mais usado em viscossuplementação atualmente, a partir da goma guar, uma substância usada na indústria alimentícia. No presente trabalho, investigamos o efeito do PGG na hiperalgisia da AZy. Métodos: Ratos Wistar receberam Zy-1mg intra-articular (i.a.) sendo sacrificados 6h ou 14d após. A hiperalgisia foi avaliada pelo teste de incapacitação articular (TSP em s/1min), entre 3 e 4h de AZy e o influxo celular (IC células/mm³) no lavado articular. Grupos de animais receberam PGG 30min antes de Zy e o controle recebeu apenas PGG. Um grupo (NT) recebeu apenas Zy e um grupo naieve recebeu apenas salina i.a. Resultados: A administração do PGG inibiu significativamente (p<0,05) a hiperalgisia (12,8±1,9), quando comparado ao NT (40,2±7,9). O IC não foi alterado pelo PGG, em relação ao grupo NT. A administração apenas de PGG não desenvolveu hiperalgisia nem promoveu IC, quando comparado ao naieve. Discussão: A administração de PGG promove analgesia na AZy, independente de alterar o IC. O desenvolvimento do PGG pode levar à produção de um medicamento para viscossuplementação, com baixo custo. Apoio: FUNCAP, CNPq.

04.145

BISFOSFONATOS INIBEM MIGRAÇÃO CELULAR E PRODUZEM ANTINOCICEPÇÃO NÃO REVERSÍVEL POR NALOXONA NA ARTRITE INDUZIDA POR ZYMOZAN (AZy). 2Carvalho, AP, 2Souza, LT, 2Siebra, MX, 1Ribeiro, RA, 3Cunha, FQ, 2Rocha, FAC, Dep. Fisiologia e Farmacologia 1, Medicina Clínica 2 (UFC), Dep. Farmacologia-FMRP, USP-SP.

Objetivo: Em estudo anterior, demonstramos que risedronato (RS), um bisfosfonato (BF) usado no tratamento da osteoporose, inibiu a hiperálgia na AZy. Embora pareça que BF tenham ação anti-inflamatória por inibição de macrófagos, não está claro o seu mecanismo de analgesia. Neste estudo, investigamos o efeito de alendronato (AL), um outro BF, na hiperálgia da AZy e a possível mediação de opióides nesse mecanismo. Métodos e Resultados: Ratos Wistar receberam injeção de zymosan (Zy-1mg) intra-articular (ia) no joelho direito e mediu-se a incapacitação articular (IA) na 3a e 4a hora da AZy. Após 6h, avaliou-se no lavado articular o influxo celular (IC-cél/mm³). Grupos foram tratados com RS 100ug/kg sc e AL 50, 100 e 500 ug/kg i.p. 1h antes da indução da AZy. Um grupo recebeu antagonista opióide - Naloxona 2mg/kg (NAL) i.p. -meia-hora antes do pré-tratamento com RS 100ug/kg (grupo RS+NAL). Controles (CT) receberam salina. Resultados: AL 50, 100 ou 500 ug/kg reduziu a IA em 47%, 32.5% e 41.8%, respectivamente (p<0,05). AL 50ug/kg reduziu o IC para 1.5 + 0.2 x10³/mm³ em relação ao CT (p<0,05). RS 100ug/kg reduziu (p<0,05) a IA em 49,8%, e o IC para 1.2+ 0.2 x10³/mm³, em relação ao CT (3.7+0.3 x10³/mm³). A co-administração de NAL + RS não reverteu o efeito do RS sobre a IA ou o IC de forma significante em relação ao CT (p>0,05). Conclusões: RS e AL têm efeito analgésico na hiperálgia da AZy. RS e AL inibem migração celular na AZy. O efeito antinociceptivo dos BF na AZy não parece ser mediado por liberação de opióides endógenos. Apoio financeiro: UFC, FUNCAP, CNPq.

04.146

ESTUDO COMPARATIVO DA MORFOLOGIA E HISTOPATOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL (DPE) ENTRE RATOS NORMAIS E DIABÉTICOS. Menezes,AMA¹; Chaves,HV¹; Lima,DE¹; Teixeira,PAL¹; Ribeiro,RA¹; Brito,GAC² - Deptos. Fisiologia e Farmacologia¹, Morfologia²-UFC

Introdução: A periodontite, principal causa da perda de dentes em adultos, é uma doença na qual ocorre inflamação das estruturas de suporte dos dentes e reabsorção óssea e está relacionada com a virulência dos microrganismos e a resistência do hospedeiro. Em pacientes diabéticos, observa-se maior severidade da doença periodontal (DP) devido à resistência diminuída à infecção e capacidade reparativa menor destes. Este trabalho visa estudar a evolução da DP em ratos diabéticos. Métodos: O diabetes foi induzido através da injeção IP de estreptozotocina (75mg/kg) 24 horas

antes da indução da DPE. A DPE foi induzida passando-se um fio de náilon 3.0 em torno do segundo molar superior esquerdo de ratos Wistar fêmeas (180 – 200g), permanecendo durante 11 dias. Os parâmetros avaliados foram: índice de perda óssea (IPO) alveolar, análise histopatológica, curva glicêmica, variação de massa corpórea e leucogramas realizados nos períodos 0h, 24h, 30h, 2, 8 e 12 dias.

Resultados: Observou-se que em relação ao IPO não houve diferença estatística. Na análise histopatológica, constatou-se aumento do infiltrado inflamatório no processo alveolar nos ratos diabéticos. Foi observado hiperglicemia nos animais diabéticos a partir de 24 horas após a indução da diabetes, mantendo-se constante durante os 11 dias. Nos ratos diabéticos, houve maior variação de massa corpórea. No leucograma, houve redução de forma significante do número de leucócitos na 30^a hora.

Discussão: Esses resultados comprovam maior desordem periodontal em ratos diabéticos.

Apoio financeiro: (CNPq)

04.147

POTENCIALIZAÇÃO DAS CONTORÇÕES ABDOMINAIS EM CAMUNDONGOS PRÉ-TRATADOS COM ESTREPTOZOTOCINA (STZ): PROCESSO INDEPENDENTE DA HIPERGLICEMIA. Faidiga, G.B., Cunha, J.M., Cunha, F.Q. & Ferreira, S.H. Depto de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

Introdução: Um dos agentes químicos mais utilizados experimentalmente para indução de diabetes é a STZ, cuja hiperálgia está associada ao desenvolvimento de hiperglicemia. Entretanto, estudos realizados em nosso laboratório indicam que a STZ administrada i.v. ou intraplantar induz hiperálgia mecânica em patas de ratos independente da hiperglicemia, além de potencializar a hiperálgia induzida por PGE₂. O objetivo desse estudo foi avaliar as contorções abdominais em camundongos tratados com STZ. Métodos e Resultados: Observamos que a injeção i.p. de ácido acético (AA, 0.8%) em camundongos (Swiss, 25 a 30 g) pré-tratados 19 dias antes com STZ (100, 150 ou 200 mg/kg, i.p.) não induziu um número estatisticamente diferente de contorções abdominais quando comparado ao grupo controle. Somente as maiores doses induziram hiperglicemia, a qual foi observada desde a primeira semana após o tratamento. A administração i.p. de STZ (30-100 mcg/cav) não induziu per si o desenvolvimento de contorções abdominais, nem alterações na glicemia sérica. Porém, em animais pré-tratados, 24 h antes, com STZ (30, 100 ou 300 mcg, i.p. ou s.c.) a injeção i.p. de AA (0.4%) ou zimosan (500 mcg/cav) induziu um número significativamente maior de contorções abdominais quando comparado aos animais controle, média de 82 e 73%, respectivamente. Conclusões: Esses dados confirmam que a STZ induz per si sensibilização dos neurônios primários ou secundários, processo independente do desenvolvimento de hiperglicemia. Os mediadores envolvidos nessa sensibilização estão sendo investigados. Apoio Financeiro: FAPESP e PRONEX.

04.148

A HIPERALGESIA MECÂNICA AGUDA INDUZIDA POR ESTREPTOZOTOCINA (STZ) INDEPENDENTE DA PARTICIPAÇÃO DE CITOCINAS. Cunha, J.M., Schivo, I.R.S., Rosa, S.R., Cunha, F.Q., Ferreira, S.H. Depto de Farmacologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP.

Introdução: A neuropatia é uma das complicações mais relevantes do paciente diabético. Um dos agentes químicos mais utilizados experimentalmente para indução de diabetes é a STZ, cujas alterações na sensibilidade à dor estão associadas ao desenvolvimento de hiperglicemia. No entanto, estudos realizados em nosso laboratório indicam que a STZ administrada i.v. ou intraplantar (i.pl.) induz hiperálgia mecânica em ratos independente da hiperglicemia. O objetivo desse estudo foi avaliar a participação de citocinas (TNF alfa, IL-1 beta, IL-6 e CINC-1) na hiperálgia induzida por injeção i.pl. de STZ. Métodos e Resultados: Observamos que a administração i.pl. de STZ (30-300 mcg) induz hiperálgia mecânica, avaliada pelo método de pressão em patas de ratos (Wistar, 180-200 g), desde a primeira hora após sua administração até pelo menos 8h, retornando aos valores controles 24 h depois. O pré-tratamento, 1 h antes, com inibidores da síntese de citocinas (dexametasona, 2 mg/kg, s.c., pentoxifilina, 100 mg/kg, s.c. ou talidomida, 45 mg/kg, i.p.) não alterou significativamente a hiperálgia induzida por STZ (100 mcg/pata). A injeção i.pl. de STZ (100 mcg) não induziu significativa produção de TNF alfa, IL-1 beta, IL-6 ou CINC-1 (quantificada por ELISA em amostras de pele da pata de ratos) quando avaliada 1, 3, 5 ou 24 h após sua administração e comparada ao grupo tratado com salina (100 mcl/pata). Conclusões: Nossos dados permitem concluir que a hiperálgia mecânica aguda induzida por injeção i.pl. de STZ independe da participação de citocinas como TNF alfa, IL-1 beta, IL-6 ou CINC-1. Apoio Financeiro: FAPESP e PRONEX.

04.149

AValiação DA RESPOSTA FEBRIL EM RATOS DIABÉTICOS. ¹Cardoso, O.O.; ¹Melo, M.C.C., ²Uemura, S.A.; ³Lindsey, C.J.; Souza, ¹G.E.P. ¹Lab. Farmacologia e ²Depto. Anal. Clín. Bromat. e Toxicol., FCFRP-USP, Ribeirão Preto; ³Depto. Biofísica, EPM-UNIFESP, São Paulo.

Objetivos: A febre é uma resposta multimediada dependente da integridade dos sistemas neural e cardiovascular. A streptozotocina (SZT) promove diabetes semelhante à do tipo I pela destruição das células B pancreáticas produtoras de insulina bem como, neuropatias periféricas e insuficiência vascular. Neste estudo avaliamos o perfil da resposta febril em ratos diabéticos pelo tratamento com SZT.

Métodos e resultados: Ratos Wistar, machos (≅200g) foram tratados com SZT (60mg/kg, ip) 8 dias antes do experimento. A glicemia foi avaliada pelo método cinético da hexoquinase ao final do experimento. Níveis glicêmicos plasmáticos maior que 250mg/dl indicavam a condição dia-

bética. A temperatura corporal (Tc) foi monitorada por radiotelemetria durante 6 h após a injeção iv (5µg/kg) ou ip (50µg/kg) de LPS. A febre em animais diabéticos declinou abruptamente 3,5 h após a injeção ip de LPS ($\Delta T_c = -0,2 \pm 0,2^\circ C$) em relação aos controles ($\Delta T_c = 0,6 \pm 0,2^\circ C$). Entretanto, comparados aos animais controles, esta resposta não foi alterada quando o LPS foi injetado iv de em animais diabéticos ($\Delta T_c = 0,9 \pm 0,3^\circ C$ vs $\Delta T_c = 0,8 \pm 0,2^\circ C$).

Conclusão: A ausência de febre na 2ª fase da febre induzida pela injeção intraperitoneal de LPS sugere uma neuropatia vagal causada pelo estado diabético induzido pela SZT pois, a febre induzida por este estímulo injetado por esta via é altamente dependente da integridade do nervo vago¹.

¹Braz. J. of Med.Biol.Res. 2001 Mar;34(3):301-14

Apoio: FAPESP, CNPq

04.150

A RESPOSTA INFLAMATÓRIA ESTÁ DIMINUÍDA EM RATOS COM MODELO DE RESISTÊNCIA À INSULINA (OBESIDADE)

Toledo, D.P.; *Cuman, R.K.; *Bersani-Amado, C.A.; Passaglia, R.C.T.; Nigro, D.; Carvalho, M.H.C.; Fortes, Z.B. Depto de Farmacologia-Universidade de São Paulo; *Depto Farmacologia-Universidade Estadual de Maringá

A resposta inflamatória está diminuída no diabetes experimental do tipo 2 (resistência à insulina) (Cuman et al., Inflamm. Res., 50:01, 2001). Para verificar se há alteração na resposta inflamatória de ratos com resistência à insulina (modelo MSG-obeso) ratos machos Wistar neonatos receberam injeções s.c. de glutamato monossódico 4g/kg ou água destilada nos primeiros 5 dias de vida. Após 3 meses foram realizados teste de tolerância à glicose (IVGTT), pleurisia (injeção intrapleural de carragenina) e contagem de leucócitos no sangue e no exsudato pleural. Os níveis de glicose basal foram semelhantes em ratos obesos-MSG (149.7 ± 5.1) e controles (146.8 ± 4.2), porém, ratos obesos-MSG desenvolveram intolerância à glicose e/ou resistência à insulina. O número de leucócitos circulantes e a capacidade migratória destas células após carragenina estão reduzidos nos animais obesos-MSG (tabela).

Tabela . Número de leucócitos no exsudato após 4h da injeção intrapleural de carragenina.

Grupo	Leucócitos Totais (cells/mm ³)	MN (cells x 10 ⁶)	PMN (cells x 10 ⁶)
CONTROLE	80028 ± 3892	16 ± 1.5	64 ± 3.3
MSG	51361 ± 3464*	9 ± 0.5*	42 ± 3.3*

*p < 0.05 em comparação aos controles.

MN-leucócitos mononucleares PMN-leucócitos polimorfonucleares

Em conclusão, a redução da migração de leucócitos PMN para o foco inflamatório em animais obesos-MSG pode ser devida ao número reduzido de leucócitos circulantes nestes animais. Apoio Financeiro FAPESP, PRONEX

04.151

INTERFERÊNCIA DA DIABETES INDUZIDA POR ALOXANA SOBRE A INFECÇÃO CAUSADA POR *A. costaricensis* EM RATOS. Carvalho V.F., Barreto E.O., Serra M.F., Silva J.P., Lenzi H.⁽¹⁾, Martins M.A. e Silva P.M.R. Labs. de Inflamação e ⁽¹⁾Patologia. IOC/FIOCRUZ, RJ-Brasil.

INTRODUÇÃO: Pacientes diabéticos mostram-se mais suscetíveis a infecções microbianas, virais e fúngicas, por um mecanismo associado à deficiência em produzir uma resposta inflamatória plena. Neste estudo, investigamos o efeito do estado diabético sobre a eosinofilia e desgranulação mastocitária na infecção helmíntica por *A. costaricensis*. MÉTODOS E RESULTADOS: Ratos Wistar foram tomados diabéticos após injeção i.v. de aloxana, sendo 7 dias após infectados por via oral com 300 larvas de estágio 3 (L3) do *A. costaricensis*. As análises da população leucocitária total e diferencial nos compartimentos sangue, medula óssea e cavidade peritoneal foram realizadas 25 dias após a infecção. Mastócitos foram contados separadamente através do corante azul de toluidina. Verificamos que a resposta de leucocitose sanguínea, medular e peritoneal em ratos apenas infectados mostrou-se inibida nos animais previamente tomados diabéticos, com destaque para a marcada supressão da resposta eosinofílica em todos os sítios analisados. O processo de desgranulação mastocitária peritoneal foi igualmente suprimido nos animais infectados diabéticos. CONCLUSÃO: Nossos dados mostram que a eosinofilia tecidual e sanguínea bem como a desgranulação mastocitária vinculadas à infecção por *A. costaricensis* encontram-se inibidas em animais diabéticos, fenômeno este provavelmente resultante dos níveis aumentados de hormônios glucocorticóides endógenos detectado em animais diabéticos. Apoio financeiro CNPq, CAPES, FAPERJ, PAPES/FIOCRUZ.

04.152

INDUÇÃO DE DIABETES POR ALOXANA REDUZ O NÚMERO DE MASTÓCITOS MESENTÉRICOS EM RATOS WISTAR. Carvalho, L.R.B., Reigada, C.L.L., Barreto, E.O., Martins, M.A. Silva, P.M.R. Laboratório de Inflamação.IOC/FIOCRUZ, RJ-Brasil.

INTRODUÇÃO: Anteriormente demonstramos que ratos aloxinados apresentam diminuição no número de mastócitos livres presentes em cavidades celomáticas, tanto pleural como peritoneal. Este trabalho teve por objetivo desenvolver um modelo experimental que nos permitisse avaliar potenciais modificações na população de mastócitos teciduais na condição diabética. MÉTODOS E RESULTADOS: Ratos Wistar foram injetados com aloxana i.v. e usados 21 dias após. O tecido mesentérico, associado a vários segmentos das alças intestinais, foi obtido após fixação com paraformaldeído e montado em lâminas submetidas à coloração com Giemsa. Em parale-

lo, utilizamos marcação conjunta com azul de alcian e safranina para identificação fenotípica de mastócitos em mucosos ou conjuntivos, respectivamente. Mediante coloração com Giemsa, inicialmente constatamos a presença de uma população mastocitária abundante, localizada principalmente na região adjacente a vasos sanguíneos no tecido mesentérico de animais normais, enquanto no caso de animais diabéticos verificamos uma significativa redução no número de mastócitos. Resultado similar foi obtido quando utilizamos a coloração com azul de alcian e safranina, ficando claramente evidenciado o completo predomínio de mastócitos do tipo conjuntivo na região mesentérica. CONCLUSÃO: Nossos dados mostram ser a região mesentérica um excelente sítio para estudos referentes à população de mastócitos teciduais e, indicam que o estado diabético determina igualmente um comprometimento da população mastocitária tecidual. Suporte financeiro: CNPq, PAPES/FIOCRUZ e FAPERJ.

04.153

INFLUÊNCIA DA DIABETES MELLITUS TIPO 2 SOBRE A RESPOSTA ALÉRGICA PLEURAL EM RATOS. Cavalher Machado, S.C.; Carvalho, V.F.; Barreto, E. O.; Cuman, R.K.N.; Serra, M.F.; Azevedo V., Martins M.A., Silva P.M.R., & Sanomiya P. INCOR, LIM11- HC, FMUSP, São Paulo; DFF/IOC/Fiocruz, Rio de Janeiro; Depto de Farmacologia, UEM, Paraná, Brasil.

Introdução: Anteriormente foi reportado que animais diabéticos (do tipo 1) apresentam-se refratários à estimulação antigênica tanto em vias aéreas quanto na cavidade pleural. Neste estudo investigamos a potencial interferência do estado diabético do tipo 2 sobre a resposta alérgica pleural em ratos. Métodos e Resultados: Diabetes foi induzida em ratos Wistar machos mediante injeção de estreptozotocina (160 mg/kg, i.p.) em neonatos de 2 dias. A sensibilização foi realizada através da injeção s.c. de ovoalbumina (50 µg) e Al (OH)₃, s.c., 35 após a indução da diabetes. 14 dias depois, os animais foram desafiados com OVA (12µg/sítio) intrapleural. Verificamos que ratos sensibilizados apresentaram, 4 h após o desafio, nítida resposta exsudatória e diminuição no número de mastócitos íntegros, em paralelo a um infiltrado leucocitário, com predomínio de neutrófilos. Animais diabéticos mostraram-se refratários à estimulação antigênica como atestado pelo menor influxo leucocitário neutrofílico em paralelo à menor desgranulação mastocitária. Resposta exsudativa pleural nos ratos diabéticos apresentou uma discreta redução quando comparada àquela de ratos não diabéticos. Conclusão: Nossos achados claramente demonstram que o estabelecimento prévio do quadro diabético do tipo 2 determina um estado de refratariedade à estimulação antigênica pleural verificada em ratos sensibilizados. Apoio financeiro: FAPESP, CNPQ, PAPES/FIOCRUZ.

04.154

CHANGES IN THE EXPRESSION OF EXTRACELLULAR MATRIX (ECM) PROTEINS IN THE THYMUS AND LUNG OF ALLOXAN DIABETIC RATS. Barreto, E.O., ²Reiderer, I., Carvalho, V.F., Cordeiro, R.S.B., Martins, M.A., ²Savino, W. and ¹Silva, P.M.R. Labs of Inflammation and ²Thymus Research. IOC/FIOCRUZ, RJ, Brazil.

Introduction: *Diabetes mellitus* is characterized by anatomical and functional alterations in several body tissues. Although the etiology of these disturbances is not completely understood yet, leukocyte migration is crucial in determining tissue lesions. Since cell migration is influenced by ECM-mediated interactions, we investigated potential alterations in the expression of selected ECM proteins, laminin and fibronectin, in thymus and lung of diabetic rats. Methods and Results: Diabetes was induced by alloxan injection into male Wistar rats. 21 days later, an immunohistological analysis was performed in acetone-fixed tissue cryosections, from both diabetic and non-diabetic animals. The immunostained specimens were further evaluated through an Image Analyser System (Image ProPlus software) and arbitrary units (a.u.) per mm² of tissue were defined. A strong ECM labelling was observed in the thymus of diabetic rats: comparing the arbitrary values, we noticed an increase from 0,18 ± 0,03 to 0,79 ± 0,09 a.u./mm² and from 0,15 ± 0,02 to 0,94 ± 0,03 a.u./mm² (mean ± SEM, n=3, p<0.001) in the case of laminin and fibronectin, respectively. Although at a lesser extent, similar augmentation was noted in the lung tissue from the diabetic rats. Conclusion: Our findings clearly show an accumulation of ECM in the thymus and lung of diabetic rats. Such alterations may be related to cell migration disturbances associated with diabetic state. Financial support: CNPq, FAPES/FIOCRUZ, FAPERJ, CAPES.

04.155

INFLUÊNCIA DO DIABETES MELLITUS NA ALVEOLITE POR IMUNOCOMPLEXOS. Hortavilar, M.C.*; Landgraf, R.G.*; Tavares de Lima, W.*; Jancar, S.*; Sannomiya, P.** - *Instituto de Ciências Biomédicas e **INCOR, Universidade de São Paulo.

Introdução. Estudos mostram redução da resposta inflamatória aguda em animais diabéticos (1,2,3,4). Estudamos o papel da insulina na alveolite por imunocomplexos (IC). Neste modelo observa-se formação de IC no parênquima pulmonar, recrutamento de polimorfonucleares neutrófilos e subsequente lesão hemorrágica (5,6). O TNF α e a IL-1 β favorecem o acúmulo de neutrófilos no tecido pulmonar (7,8). Métodos. A alveolite foi induzida em ratos Wistar machos, diabéticos (D, aloxana, 42 mg/Kg, i.v., 10 dias) e controles (C), pela instilação das vias aéreas com anticorpos antiovalbumina (250 - 500 mcg) e ovalbumina i.v. (10 mg). Medimos a hemoglobina (Hb) extravasada, e a celularidade e concentrações de TNF α e IL-1 β (ELISA) no lavado broncoalveolar (LBA). Alguns diabéticos receberam insulina (DI) NPH (4UI, s.c.) logo antes da indução. Resultados. Nos diabéticos houve redução de Hb (C = 0,83 ± 0,09; D = 0,24 ± 0,04 mg Hb/mg tecido) e da contagem de

neutrófilos (C = 2,9 ± 0 milhões; D = 0,5 ± 0 milhão) e níveis de TNF α (C = 324,6 ± 32; D = 192,6 ± 35,4 pg/ml) e IL-1 β (C = 357,2 ± 16,2; D = 232,2 ± 22,7 pg/ml) no LBA. A insulina corrigiu as alterações (DI = 0,83 ± 0,15 mg Hb/mg tecido, 5,5 ± 1,3 milhões de neutrófilos, 289,3 ± 19 pg TNF α /ml e 327,9 ± 47,9 pg IL-1 β /ml), mas não a hiperglicemia. Discussão. Neste modelo o diabetes reduziu a resposta inflamatória. A insulina corrigiu a resposta, atuando como hormônio pró-inflamatório. Bibliografia. 1) Garcia-Leme, J. Eur J. Pharmacol.; 29: 298, 1974. 2) Zuleica, B.F. Br. J. Pharmacol.; 83: 635, 1984. 3) Pereira, M.A.A. Diabetes; 36: 307, 1987. 4) Vianna, E.O. Am. J. Respir. Crit. Care Med.; 151: 809, 1995. 5) Johnson, K.S. Clin. Invest.; 54: 349, 1974. 6) Tavares de Lima, W. Eur. J. Pharmacol.; 213: 63, 1992. 7) Warren, J.S. J. Clin. Invest.; 84: 1873, 1989. 8) Warren, J.S. Am. J. Pathol.; 141: 551, 1992. Apoio CAPES.

04.156

ESTUDO DA INFLAMAÇÃO PULMONAR AGUDA INDUZIDA POR LIPOPOLISSACARÍDEO DE E. COLI NO DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL. 1Alba, T.C.; 2Curi, R. & 3Sannomiya, P. 1Depto Farmacologia, 2Depto Fisiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, 3Divisão de Experimentação, INCOR, LIM-11, HC-Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP

Introdução. Dados obtidos em modelo de inflamação pulmonar aguda induzida por LPS, indicam que a produção de íons superóxido e TNF α por leucócitos do lavado broncoalveolar encontram-se reduzidos em ratos tomados diabéticos por injeção de aloxana; situação que é revertida com dose única de insulina (Boichot et al., 1999). Mediadores liberados ou ativados em resposta ao LPS, incluindo os metabólitos do ácido araquidônico, fator de ativação plaquetária e inúmeras citocinas, são os elementos responsáveis pela ativação e recrutamento dos leucócitos para as vias aéreas na vigência da inflamação pulmonar aguda (Wagner & Roth, 1999). O objetivo é avaliar a influência do diabetes mellitus sobre a inflamação pulmonar aguda induzida por LPS de *E. coli*. Métodos. Ratos Wistar, machos, diabéticos (D, aloxana 42 mg/Kg, i.v., 30 dias) e controles (C) foram submetidos à instilação intra-traqueal de solução de LPS (750 microgr) ou salina e, 6 horas após, avaliaram-se: a) o número de células no lavado broncoalveolar (LBA); b) o perfil lipídico no plasma e neutrófilos (HPLC) e c) a concentração de LTB 4 e PGE 2 no LBA (ELISA). Resultados. Animais D apresentaram redução de 74% do número de neutrófilos e 60% da concentração de PGE 2 no LBA e, redução do conteúdo de ácido araquidônico (AA) no plasma (40%). O conteúdo de AA nos neutrófilos e a concentração de LTB 4 não se alteraram. A migração celular e a concentração de PGE 2 normalizaram-se após o tratamento dos animais D com insulina (NPH, 4 UI). Discussão. Sugere-se que a insulina deva regular o infiltrado neutrofilico e a concentração de PGE 2 na vigência da inflamação pulmonar aguda induzida por bactérias gram-negativas.

Citações bibliográficas. Boichot, E. Pulm. Pharmacol. Therap., 12: 285, 1999. Wagner, J.G. J. Leukoc. Biol., 66: 10, 1999. Apoio financeiro: FAPESP

04.157

INFLAMAÇÃO ALÉRGICA PULMONAR EM RATOS EXPOSTOS À INALAÇÃO COM FORMALDEÍDO Santos¹, A.L. Gruber², J. Oliveira-Filho¹, R.M., Tavares de Lima¹, W. 1Depto de Farmacologia, ICB, 2 Depto de Química orgânica fundamental/USP, São Paulo.

Objetivos: A crise asmática é exacerbada durante o período de exposição a sensibilizadores. Entre eles o formaldeído (FA) ocupa lugar de destaque, visto que além de ser indutor de asma ocupacional, é exalado em ambiente doméstico. Neste estudo avaliamos o curso da inflamação alérgica pulmonar em ratos expostos à inalação prévia de FA.

Métodos e resultados: Ratos (Wistar, 160-180g) foram sensibilizados ou não (10 mg de ovalbumina/10 mg de alumínio, ip) após terem inalado por 4 dias durante 90 min FA (1%). Após 14 dias da sensibilização, os ratos foram broncoprovocados (via inalatória, OA 1% 15 min). Decorridas 24 h os animais foram sacrificados e LBA realizado (20 ml, PBS). O botão celular obtido da centrifugação do LBA foi corado (Rosenfeld) e as células contadas. Os resultados obtidos estão representados na tabela abaixo.

Grupos	Células no LBA		
	Total (x10 ³)	Mono(%)	PMN(%)
Basal	6,10 ± 1,0	93,2	6,75
FA	17,1 ± 2,0*	72,2	27,8
OA	20,9 ± 2,86*	68,2	31,6
FA + OA	7,39 ± 0,97**	89,4	10,60

* p < 0,05 X Basal; ** p < 0,05 X FA e OA.

Conclusão: É possível que mecanismos comuns ao formaldeído e à exposição ao antígeno (ativação de mastócitos) sejam acionados. Apoio Financeiro: FAPESP: 99/06210-2, FAPESP: 01/11417-2, CNPq.

04.158

EFEITOS DA OVARIECTOMIA (OVx) EM CAMUNDONGAS SOBRE A INFLAMAÇÃO ALÉRGICA PULMONAR (IAP). Ligeiro de Oliveira¹, A.P., Santos¹, A.L.; Fialho de Araújo¹, A.M.; Bravo Vasquez², Y.; Spina², D.; Tavares de Lima¹, W. Depto de Farmacologia, ICB/USP, São Paulo, Brasil; King College London, Londres, Inglaterra.

Introdução: A asma é caracterizada por hiperreatividade brônquica e inflamação pulmonar. Os hormônios sexuais femininos modulam esta patologia. No presente estudo avaliamos o efeito da OVx sobre a IAP.

Métodos: Fêmeas (BALB/c, 15-20 g) foram sensibilizadas (10 µg OA/1mg alumínio, ip) após 7 dias de OVx. Como controle utilizamos fêmeas falso-operadas (Sham). Após 14 dias os animais foram desafiados (OA, 1%), por 3 dias consecutivos (3 x/dia). Decorridas 24 h os animais foram sacrificados e as células da medula óssea, do sangue e do pulmão foram quantificadas. A reatividade da traquéia foi avaliada frente à metacolina (Mch) em cubas para órgão isolado contendo tampão Krebs-Hanseleit (37°C, 95%O $_2$ /5%CO $_2$), através de registro isométrico.

Resultados:

	Basal	Sham-7 dias	Ovx-7 dias
Medula óssea (Céls x 10 ⁵ /ml)	64.25 ± 6.2	37.66 ± 4.0	59.7 ± 2.8 *
Leucócitos circulantes/(mm ³)	5.516 ± 638	5.200 ± 147	5.112 ± 591
LBA (Céls x 10 ⁴ /ml)	9.0 ± 1.0	41.70 ± 7.3	17.3 ± 4.6 *
Mch (Resposta máxima) (g/100 mg de peso úmido)	27.3 ± 2.3	31.6 ± 3.3	45.4 ± 6.5 *

* p < 0.05 em relação ao grupo sham.

Conclusões: 1) A OVx parece modular o recrutamento celular para o pulmão após o desafio antigênico. 2) A OVx exacerba a atividade funcional da medula óssea e reduz a capacidade de transmigração celular. 3) A hiperreatividade da traquéia está dissociada da inflamação pulmonar, sugerindo um efeito modulador dos hormônios sexuais femininos.

Apoio financeiro: FAPESP (99/06210-8) e CNPq.

04.159

EFEITOS DA OVARIECTOMIA (OVx) SOBRE O ESTADO FUNCIONAL DE FAGÓCITOS EM MODELO DE INFLAMAÇÃO ALÉRGICA PULMONAR (IAP). Ligeiro de Oliveira, A.P., Domingos, H.V.; Oliveira-Filho, R.M.; Tavares de Lima, W. Depto de Farmacologia., ICB/USP, S.P.-Brasil.

Introdução: O efeito da OVx sobre a IAP é dual, exacerbando (OVx-1) ou inibindo (OVx-7) a mobilização celular (Ligeiro de Oliveira *et al.*, *FeSBE* 1998, 347, 14.115). Neste estudo avaliamos a participação dos hormônios sexuais na modulação da atividade funcional dos leucócitos em ratos OVx..

Métodos: Fêmeas (Wistar) foram sensibilizadas (OA/alúmen) após 1 ou 7 dias de Ovx ou manipulação (Sham). Após 14 dias foram desafiadas (OA, 1%), decorridas 24 h sacrificadas e o lavado broncoalveolar (LBA) realizado. As células foram incubadas, estimuladas ou não com LPS (200 µg/ml) e o sobrenadante da cultura recolhido 24 h após para quantificação de NO₂/NO₃. Paralelamente, culturas de células do LBA estimuladas ou não (1h) com PMA (20 ng/poço) foram utilizadas para quantificar a liberação de H₂O₂.

Resultados:

	Basal	Sham-1	OVx-1	Sham-7	Ovx-7
NO ₂ /NO ₃ (µM/ml)	5.5 ± 1.8	10.3 ± 0.6	13.9 ± 1.3	11.2 ± 0.9	7.8 ± 0.5
NO ₂ /NO ₃ /LPS	7.5 ± 1.4	15.7 ± 2.2	23.4 ± 3.2*	16.8 ± 1.6	16.1 ± 1.7*
H ₂ O ₂ (ng/2x10 ⁶ céls)	2.9 ± 0.2	1.5 ± 0.07	6.8 ± 0.9**	6.1 ± 1.0	3.6 ± 0.9**
H ₂ O ₂ /PMA	6.3 ± 0.8	6.8 ± 0.8	9.2 ± 1.6	14.8 ± 2.9	6.6 ± 1.5**

Conclusões: A OVx parece modular não só a migração mas também o estado funcional dos leucócitos. O tempo de OVx pode ter efeito dual sobre a atividade funcional das células, exacerbando (Ovx-1 dia) ou inibindo (Ovx-7 dias) a liberação espontânea de H₂O₂ e interferir com a liberação estimulada do NO.

Apoio financeiro: FAPESP (98/10263-7; 01/13384-4) e CNPq.

04.160

EFEITO DA ABSTINÊNCIA (ABS) À ANFETAMINA SOBRE A INFLAMAÇÃO ALÉRGICA PULMONAR (IAP) EM RATOS. Ligeiro de Oliveira¹ AP; Lazzarini², R; Fialho de Araújo¹, AM; Tavares de Lima¹, W; Palermo-Neto², J. Depto de Farmacol., ICB; Depto de Patol., FMVZ, USP, São Paulo, Brasil.

Introdução: A anfetamina (ANF) exerce potente efeito na funcionalidade de fagócitos. Mostramos que sua administração prolongada (21 dias) exacerba a IAP (Ligeiro de Oliveira *et al.*, *FESBE* 2001, 433, 14.160). Neste estudo avaliamos a IAP em ratos com distintos dias de ABS à ANF. Paralelamente estudos comportamentais também foram realizados.

Métodos: Ratos, tratados ou não (21 dias) com ANF (1 mg/kg, ip) receberam OA/alúmen (v/v, ip) no 7º dia. Animais com 1, 3 e 5 dias de ABS foram broncoprovocados (OA 1%) no 14º dia de OA/alúmen. Após 24h as células no lavado broncoalveolar (LBA), sangue, medula e baço foram quantificadas. Após 1 e 12h da injeção de ANF e do seu tratamento prolongado (21 dias) o estudo do campo aberto foi realizado.

Resultados: As células (x10³) no LBA, após tratamento com ANF aumentaram (38,4±4,6) em relação ao controle (28,6±1,6). A IAP não foi afetada no 1º (42,9±7,9) e 5º dia de ABS (32,0±4,0) e reduziu no 3º dia (27,8±1,3*). As células na medula (x10⁶) reduziram no 3º (44,7±3,5*) e no 5º dia (59,8±7,3*) em relação à ANF 21 dias (89,8±7,7). A exploração no campo aberto aumentou (p<0,05) 1h após a ANF (tratamento agudo e prolongado), mas não foi afetada 12h após os tratamentos

Conclusão: Sugere-se que mecanismos acionados pela ANF cronicamente, mas não os operantes agudamente, se relacionam com a exacerbação da IAP. Durante a ABS (3º e 5º dia) tais mecanismos deixam de operar de modo gradativo retornando a IAP aos padrões do grupo não tratado.

Apoio Financeiro: FAPESP 98/10263-7;99-062108, CNPq

04.161

PARTICIPAÇÃO DOS RECEPTORES AT1 E EICOSANOÍDES NA HIPERREATIVIDADE BRÔNQUICA (HB) DE RATOS OVARIECTOMIZADAS (Ovx). Silva, Z.L.; Oliveira-Filho, R.M.; Tavares de Lima, W. Depto de Farmacologia, ICB/USP, São Paulo.

Objetivos: Mulheres asmáticas apresentam piora da função pulmonar durante o ciclo sexual (Pharmacother. 2:224, 1997). O estrógeno reduz a atividade da ECA (Hypertension 33:323, 1997) e pode interferir com a geração de eicosanóides (eicosa). Este estudo avalia o efeito da angiotensina e dos eicosa na HB à metacolina (Mech) em ratos OVx. Métodos e resultados: Ratos Wistar (160-180 g) após 7 dias de Ovx, ou falso-operadas (FO), foram sensibilizadas [10 mg ovalbumina (OA)/10 mg de alúmen, ip]. O desafio foi feito 14 dias após, inalando OA (1% 15 min).

Após 24 h os animais foram sacrificados e anéis de brônquio intrapulmonar (Bi) montados para registro isométrico (curvas dose-resposta) frente à MCh em cuba para órgão isolado contendo tampão Krebs-Hanseleit (37°C, 95%O₂/5%CO₂). Os valores de resposta máxima (Emax) encontram-se na tabela abaixo Bi isolado de Ratos OVx Emax (g/100 mg peso) OVX 25,7 ± 1,2 Bloqueio da ciclo1.Lipo2.leucotrienos peptídicos3 (mg/kg) Indo1 (4, ip, 12h) 7,4 ± 0,2* NDGA2 (30, ip, 5 dias) 15,5 ± 0,9* Montelukaste3 (10,ip, 5 dias) 20,5 ± 0,9* Bloqueio da ECA e antagonistas de AT1b (mg/kg po) Enalapril (10, 21 dias) 9,9 ± 1,5* Telmisartanb (15, 21 dias) 13,8 ± 3,2* Losartanb (15, 7 dias) 15,8 ± 0,4* Média ± EPM de 7 experimentos; *p<0,05 X OVx não tratado. Conclusão: É possível que os hormônios sexuais modulem a atividade da ECA, da ciclo e da LOX, contribuindo para a exacerbação da broncoconstrição na asma pré menstrual. Apoio Financeiro: FAPESP 99/06210-8, CNPq.

04.162

LIDOCAÍNA SUPRIME A FUNÇÃO DE CÉLULAS EPITELIAIS ALVEOLARES: INTERFERÊNCIA SOBRE O ACÚMULO INTRACELULAR DE CÁLCIO. ¹Azevedo, V.V.; ¹Pires, A.L.A.; Lucena, S. ²Choudhury, Q.; ²Croxtall, J. D.; ¹Cordeiro, R.S.B.; ¹Silva, P.M.R. e ¹Martins, M.A. ¹Depto de Fisiologia e Farmacodinâmica, IOC, FIOCRUZ - RJ. ²Department of Biochemical Pharmacology, The William Harvey Research Institute, UK.

INTRODUÇÃO: Lidocaína possui reconhecida propriedade anti-asmática, e um dos mecanismos propostos para tal ação é a inibição da sobrevivência e função biológica de eosinófilos. Nós postulamos que o tratamento com lidocaína poderia inibir também a função de células epiteliais alveolares que podem igualmente favorecer a resposta alérgica pulmonar através da liberação de mediadores pró-inflamatórios. MÉTODOS E RESULTADOS: Pneumócitos alveolares humanos do tipo II – linhagem A549 - foram cultivados em insertes por 24 h para posterior análise de sua atividade metabólica após exposição a ATP em presença ou ausência de lidocaína com auxílio de microfisiômetro. Células A549 foram, além disso, carregadas com ácido aracdônico radioativo ou Fura2-AM para avaliar-se também o efeito de lidocaína sobre a ativação da cascata do ácido aracdônico e o acúmulo intracelular de cálcio respectivamente. Em presença de lidocaína observou-se inibição concentração-dependente da secreção de prótons induzida por ATP (IC₅₀ = 550 µM), da liberação de ácido aracdônico induzida por IL-1α e do acúmulo intracelular de cálcio induzido por ATP (IC₅₀ = 223 µM) ou IL-1α (IC₅₀ = 182 µM). CONCLUSÃO: A funcionalidade de células epiteliais alveolares humanas é significativamente inibida após tratamento com lidocaína, num mecanismo provavelmente relacionado ao bloqueio do acúmulo intracelular de cálcio. APOIO FINANCEIRO: CNPq, FAPERJ, CAPES

04.163

EFEITOS DA INALAÇÃO CRÔNICA DE BROMETO DE IPRATRÓPIO NA RESPOSTA CONTRÁTIL DE TRAQUEIAS ISOLADAS DE RATOS. De Moraes I.M.*, Bezerra, F.C., Moura, C.T.M. e Capaz F.R. - (LAFAR) - Depto. de Fisiologia e Farmacologia - Faculdade de Medicina - UFC

Introdução: A diminuição de contato do mediador excitatório com o seu receptor induz supersensibilidade na estrutura innervada (Flemming, 181,339, 1972), foram estudados os efeitos do tratamento crônico por inalação com brometo de ipratrópio (BI) na contratilidade de traquéias isoladas de ratos.

Métodos: Ratos Wistar, machos, pesando entre 250-300g foram submetidos a inalação de BI (1mM, 14 dias, 4/4 hs). Após o tratamento, os animais foram sacrificados 0, 2, 8 ou 12 hs após a última inalação as traquéias foram removidas e montadas sob a forma de anéis em banhos para órgão isolado (Krebs-Henseleit, 95%O₂-5%CO₂, 36,5° C, Ti=1,0 gf). O experimento foi monitorado com um transdutor isométrico acoplado a um microcomputador. Após o período de equilíbrio, (1 h) foram confeccionadas curvas concentração-efeito (CCE) ao carbachol (Cch).

Resultados: Traquéias isoladas imediatamente após o fim do período de inalação apresentaram desvio para a direita na CCE ao Cch [CE50(LC)x10⁻⁷ Cont=2,81(1,25-6,32), Iprat=42,6(26,0-69,8), n=7 p<0,01]sem alteração da resposta máxima. Traquéias isoladas 8 e 12 horas após o fim do tratamento, mostraram evidente aumento da Resposta máxima sem alteração ao nível da CE50 [Rmax (SEM) Cont=2,31(0,17), Iprat8h=3,05(0,24); n=6 p<0,05].

Discussão: Os resultados demonstraram aumento de responsividade de traquéias isoladas após o tratamento crônico com BI e sugerem uma resposta adaptativa ao bloqueio crônico do receptor muscarínico.

Auxílio CNPq

04.164

INFLUÊNCIA DO SUCO GÁSTRICO (SG) SOBRE A REATIVIDADE DA TRAQUEIA (T) DE RATOS SUBMETIDOS A INFLAMAÇÃO ALÉRGICA PULMONAR. Kanikadan, P.Y.S.; Oliveira-Filho, R.M.; Sertié, J.A.A.; Tavares de Lima, W. Depto de Farmacologia, ICB/USP, São Paulo.

Introdução: O refluxo gastroesofágico é considerado potencial fator indutor da exacerbação da broncoconstrição em asmáticos. Embora a acidificação do esôfago altere a resposta colinérgica das vias aéreas, o efeito do SG na reatividade da T isolada de ratos expostos à inflamação alérgica ainda não foi explorado. Neste estudo, avaliamos a reatividade a metacolina (Mch) de T isoladas após a broncoprovocação (Bp) e incubadas intraluminalmente (Int) com SG. Métodos e resultados: Ratos (Wistar) foram sensibilizados [10mg ovoalbumina (OA) /10mg de alumínio, ip. O desafio foi feito 14 dias após, inalando OA (1% 15min). Após 24h, os ratos foram sacrificados e os anéis de T incubados (3h) e preenchidos Int com 0,02 ml de SG (Sertié et al, Pharm. Biol., 38, 113, 2000). As T foram montadas para registro isométrico de força frente a Mch em cuba para órgão isolado contendo tampão Krebs-Henseleit

(37°C,95%O₂/ 5%CO₂). Como controle, grupos de T foram incubadas com solução salina (0,9%). Os dados obtidos (g/100mg peso tecido) indicaram que a Emax após incubação com salina foi 20,4±1,9 e no grupo basal foi 14,7±0,6* (*p<0,05). A Bp não afetou a Emax (19,4±1,3). O SG reduziu a Emax (14,3±1,5*) e após a Bp potencializou a redução da Emax (10,5±1,2*). Conclusão: A salina exacerba e o SG reduz a Emax. O SG parece exercer efeito protetor da resposta contrátil in vitro, que é exacerbado na presença da resposta alérgica in vivo. Sugere-se que constituintes do SG modulem a contração direta ou indiretamente. Apoio Financeiro: FAPESP 99/06210-8, CPNq, CAPES.

04.165

PRODUÇÃO DE TNF E PROSTANOIDES APÓS REAÇÃO ANAFILÁTICA (RA) EM BRÔNQUIO INTERNO ISOLADO (BI) DE RATAS OVARIECTOMIZADAS (OVx). Trezena, AG¹, Sabino, AD², Silva³, ZL, Domingos³, HV, Oliveira Filho³, RM, Oliani², SM, Tavares de Lima³, W. ³Depto de Farmacologia, ICB/USP, ¹ Lab.Vacinas Anaeróbicas, I.Butantan, SP, ²I.Biologia, UNESP, Rio Preto, SP.

Introdução: TNF, PGE₂ e PGD₂ modulam a inflamação na asma cuja piora é observada no ciclo menstrual. A interação, hormônios sexuais com TNF e prostanoídes na inflamação alérgica é pouco explorada. Neste estudo quantificamos os mastócitos, TNF, PGE₂, PGD₂ na RA em BI de ratas OVx.

Métodos e resultados: Ratas adultas após 7 dias de OVx, ou falso-operadas (FO), receberam ovoalbumina (OA)/alúmen, ip. Após 14 dias, foram sacrificadas e os BI isolados, incubados em placas plásticas contendo RPMI-1640, soro bovino fetal e mantidos em estufa de CO₂. A RA foi realizada 1 h após adicionando OA (100g/ml). Aliquotas (100 µl) foram retiradas (30 e 90 min, 3, 6 e 24h) e dosados TNF e PGE₂, PGD₂ (30 e 90 min). Os mastócitos foram analisados em Bi fixados, incluídos em historesina e corados (azul de toluidina). Os dados revelaram que 24h após os níveis de TNF (U/ml) no OVx foram 536,2±98,0 (p<0,05) e os do FO 293,5±26,9. Aos 30 min a PGD₂ foi 39.698,1±1.475,3 pg/ml e aos 90 min 123.064,1±31.082. A PGE₂ aos 30 min foi 6.63±1,22 e 18,5±1,56 aos 90 min. No grupo Sham, a PGD₂ foi 32.764±4.415 (30min), 74.388±18788 (90 min) e PGE₂ 4.47±0,4 pg/ml (30 min) e 14,3±0,4 (90 min). Os mastócitos do grupo FO desgranularam 67% e os do OVx 30% (p<0,05).

Conclusão: Os hormônios sexuais inibem a geração de TNF e PGE₂ e estimulam os mastócitos as quais podem não ser a principal fonte de TNF e prostanoídes neste modelo.

Apoio financeiro: FAPESP (99-06210-8), CNPq

04.166

EXOGENOUS SECRETORY PHOSPHOLIPASES A2 INDUCE EXPERIMENTAL ACUTE PANCREATITIS AND LUNG INJURY IN RATS. 1Camargo, E.; 1Esquisatto, L.C.M.; 3Ribela, M.T.P.; 2Novello, J.C.; 1De Nucci, G.; 1Antunes, E.; 1Landucci E.C.T. 1Department of Pharmacology, UNICAMP; 2Department of Biochemistry, UNICAMP; 3Department of Application of Nuclear in Techniques in Biological Sciences IPEN/CNEN, USP.

Introduction: Phospholipases A2 (PLA2) are important mediators in the acute pancreatitis (AP) and consequent lung injury. We have investigated the AP induced by exogenous PLA2 from Naja naja venom and the PLA2 homologue Piratoxin I (a toxin from B.pirajai venom). Methods: Acute pancreatitis was induced by two methods: (1) the i.v. infusion of caerulein (a cholecystocinin analogue, 5 µg/kg/h, 1 mL/h) or PLA2 from Naja naja venom (30 µg/kg/h, 1 mL/h) for 4 h; (2) the injection into the pancreaticobiliary duct of sodium taurocholate 5%, PLA2 from Naja naja venom or Piratoxin I (100 and 300 µg/kg) in a steady manual pressure over a period of 60 sec. Plasma protein extravasation was measured by 125I-human serum albumin. Neutrophil infiltration was assessed by evaluation of the MPO activity in the rat lung tissues. Results: PLA2 from Naja naja venom did not cause a pancreatic plasma extravasation when infused i.v., although promoted elevated levels of neutrophil infiltration in rat lungs. Both PLA2 from Naja naja venom and Piratoxin I when injected into the pancreaticobiliary duct induced significantly pancreatic plasma extravasation when compared with saline group, but only the higher dose of both substances was able to evoke significant neutrophil infiltration in rat lung. Conclusions: When infused intravenously PLA2 from Naja naja venom may be inactivated by pancreatic juice, but when injected into the pancreaticobiliary duct either PLA2s used are able to induce pancreatic plasma extravasation and lung neutrophil infiltration, confirming the key role of PLA2s in this disease. Financial support: FAPESP and CNPq

04.167

PULMONARY INFLAMMATORY RESPONSES INDUCED BY INTRATRACHEAL INJECTION OF STAPHYLOCOCCAL ENTEROTOXINS TYPES A(SEA) AND B(SEB) IN RATS. ¹Desouza, IA, ¹Franco-Penteado, CF, ¹Camargo, EA, ²Falconi, MA, ²Lima, CSP, ³DeNucci, G & ¹Antunes, E. ¹ Department of Pharmacology, FCM, UNICAMP, Campinas, SP, Brazil; ² Laboratory of Haematology, FCM, UNICAMP, Campinas, SP, Brazil & ³ Department of Pharmacology, ICB, USP, São Paulo, SP, Brazil.

Introduction and Goal: We have previously showed that SEA and SEB induce in vivo macrophage-dependent neutrophil (NE) migration through different mediators such as neuropeptides, LTs, PGs, NO, histamine and PAF. The NE recruitment induced by these SEs in bronchoalveolar lavage (BAL) of rats is accompanied by alterations in leukocyte counts in peripheral blood and bone marrow. In this work we examined the underlying mechanisms involved in the NE migration in rats intratracheally injected with SEA or SEB. Methods and Results: Male Wistar rats (180-250 g) were submitted to intratracheal injection of SEA or SEB (0.5-3.0 ng/0.4 ml). After 4 h, the trachea was exposed and the lungs were washed with PBS. The leukocyte counts in BAL were also determined in rats pre-treated with following drugs: dexamethasone (0.5 mg/kg, ip); ciproheptadine (2 mg/kg, ip); BN52021 (1 mg/kg, iv); SR140333 (20 nmol/kg, iv); BWA4C (0,1 mg/kg, iv); celastrol (3 mg/kg, iv); D-NAME and L-NAME (20 mg/kg, iv). NE were isolated from peripheral blood sample in order to assess the in vitro chemo-

taxis and adhesion. The NE influx induced by SEA and SEB was inhibited by dexamethasone (96%; 80%), ciproheptadine (89%; 32%), BN52021 (73%;42%), SR 140333 (66%;60%), BWA4C (59%, 37%) and L-NAME (70%, 77%), RESPECTIVELY. The inhibition induced by celastrol on NE recruitment induced by SEA on BAL was higher (94%) when compared with that induced by SEB (65%). In addition, SEA or SEB failed to induce NE chemotaxis an adhesion in vitro. Conclusions: The pulmonary infiltration induced by SEA and SEB involves a number of newly synthesized mediators. Our results contribute to a better understanding of mechanisms of action of SEs in the lung. Financial Support: FAPESP

04.168

EFEITOS DO DIAZEPAM NA GLICEMIA DE RATOS. Lazzarini, R.**, Malucelli, B. E., Palermo-Neto, J. - Dep¹⁰. Patologia - Laboratório de Farmacologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP.

Objetivos: Avaliar os efeitos do diazepam sobre a glicemia de ratos.

Métodos e Resultados: 60 ratos (Wistar), foram divididos ao acaso em 6 grupos: Placebo (C1), Falso operados (C2 e E1), Adrenalectomizados bi-lateralmente (C3, E2) e Não adrenalectomizados (E3). Os animais dos grupos C1, C2 e C3 receberam 0,1 ml/Kg do veículo do diazepam; aqueles dos grupos E1 E2 e E3, receberam 10,0 mg/Kg de diazepam; os tratamentos foram feitos pela via i.p. Os animais adrenalectomizados foram mantidos com dieta normal, recebendo uma solução de cloreto de sódio 0,9% como água de bebida. Decorridos 7 dias da adrenalectomia, mediu-se a glicemia dos animais imediatamente antes e 1 hora após os tratamentos. As diferenças dos valores da glicemia medidas antes e 1 hora após os mesmos foram: (C1 = 0,00 ± 2,7; C2 = 10,0 ± 3,8; C3 = 0,0 ± 3,8; E1 = 76,2 ± 10,9* E2 = 4,2 ± 3,7; E3 = 66,7 ± 20,8*).

Conclusão: O tratamento agudo com 10,0 mg/Kg de diazepam aumentou (p<0,05) a glicemia dos animais; este fato foi revertido pela adrenalectomia. Assim é possível que este efeito seja consequência de uma estimulação dos PBR presentes nas adrenais, isto é, via liberação de glicocorticoides. De fato, este fármaco nesta dose aumentou os níveis deste hormônio (Immunopharmacol. Immunotoxicol., 23, 253-65, 2001). FAPESP: (Proc. n.º 99/04128-2 / 99/04228-7)

04.169

EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE CICLOSPORINA A EM DIFERENTES REGIÕES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL. Yokoro, C. M., Francischi, J.N. Departamento de Farmacologia, ICB-UFMG.

A Ciclosporina A (CsA), é capaz de inibir o desenvolvimento da hiperalgesia e do edema em ratas artríticas quando administrada agudamente no ventrículo lateral direito desses animais.

OBJETIVO: Verificar a especificidade do efeito da CsA, administrando-a em diferentes regiões do sistema nervoso central (SNC): *locus coeruleus* e medula espinhal.

MÉTODOS: A Artrite foi induzida por injeção sub-

cutânea de 0.2 mL de uma emulsão óleo-água contendo 400µg de *Mycobacterium butyricum* no terço proximal da cauda de ratas Holtzman fêmeas (140-170 g). Edema (E) e hiperalgesia (H) foram aferidos por hidropletismometria (mL) e pelo método das vocalizações (n vocalizações/5 flexões forçadas das articulações tíbio-társicas), respectivamente. CsA ou seu veículo foram administrados por via intratecal (150, 50, 15 µg/10µL) ou por via intracereular (10µg/0.2µL) do dia 10 ao dia 14 do experimento. Resultados são apresentados como média±EPM e comparados por ANOVA.

RESULTADOS: CsA (150 e 50µg) por via intratecal inibiu completamente o edema ($E_{C \text{ DIA } 14}$: 1.48±0.1287/ $E_{C \text{ DIA } 14}$: 1.256±0.034; p<0.05) e a hiperalgesia ($H_{C \text{ DIA } 14}$: 0.89±0.055/ $H_{C \text{ DIA } 14}$: 0.18±0.066; p<0.05) das ratas artríticas, quando comparadas ao seu controle (C). Porém, a administração de CsA no *locus coeruleus* (10 µg/0.2µg) não foi capaz de inibir os sinais e sintomas da artrite nos animais artríticos tratados ($E_{C \text{ DIA } 14}$: 1.40±0.03/ $E_{C \text{ DIA } 14}$: 1.386±0.066; $H_{C \text{ DIA } 14}$: 0.70±0.3/ $H_{C \text{ DIA } 14}$: 0.70±0.173).

CONCLUSÕES: Nossos resultados demonstram que o efeito analgésico/antiinflamatório da CsA é específico, e não parece relacionado à região do *locus coeruleus*.

04.170

USO PROFILÁTICO DO ÁCIDO ACETILSALICÍLICO NA CEFALÉIA INDUZIDA PELO FRIO: ESTUDO PILOTO. Perla AS, Barea LM, Pires FD, Barros HT. Departamento de Farmacologia / Departamento Neurologia - Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre / ISCMPA - RS / Brasil

Introdução: dor de cabeça é uma queixa comum, podendo existir vários desencadeantes na sua etiopatogenia. C, pode ser um fator desencadeador da?Estímulo térmico palatal (0 e 4 Cefaléia Induzida pelo Frio (CIF), que pode atingir até 30 % da população. O objetivo do estudo foi avaliar o uso profilático do ácido acetilsalicílico (ASS) neste tipo de cefaléia. Métodos: foram alocados 23 voluntários sadios, tratados 30 min antes, com ASS nas doses de 100, 325 ou 500 mg e comparados com placebo, após exposição ao estímulo térmico. Como desfecho, avaliamos o desencadeamento, o padrão da dor e sua associação com cefaléias primárias (CP) através de questionário específico e Escala Análoga-Visual de Dor. Os dados coletados foram analisados por ANOVA e medidas de tendência central (p<0,05 = estatisticamente significativo). Resultados: a média de idade foi 21,78 anos, 65 % eram homens, e cerca de 56,62 % da amostra apresentava história prévia de CP. Nos controles, 23 % apresentaram CIF comparados com 47,8 % dos voluntários tratados, observando-se que apenas 325 mg de AAS apresentou uma resposta profilática satisfatória (p< 0,05). Discussão: Além de acometer uma proporção considerável da população jovem, a CIF também pode ser um possível marcador para as CP, sendo que há relatos na literatura da eficácia do uso de ASS na profilaxia deste tipo de cefaléia. Apesar de nossos dados não apresentarem resultados significativos, talvez pelo reduzido tamanho amostral, é um assunto que merece ser melhor explorado.

04.171

AValiação DO ESTRESSE OXIDATIVO NO ENVELHECIMENTO E NA DOENÇA DE ALZHEIMER. ¹Kawamoto, EM; ²Marcourakis, T; ¹Bernardes, CS; ¹Munhoz, CD; ¹Glezer, I; ¹Scavone, C; ³Bahia, VS; ³Caramelli, P; ³Nitrini, R. ¹Depto. Farmacologia, ICB-USP ²Centro de Investigação em Neurologia (LIM/15), FMUSP ³Departamento de Neurologia, FMUSP. São Paulo.

Fundamentos: Evidências sugerem que alterações na atividade da óxido nítrico sintase (NOS) estão envolvidas no envelhecimento e na DA. O NO quando complexado com o ânion superóxido (O₂⁻) leva à formação do ânion peroxinitrílico (ONOO⁻), o qual parece estar associado aos processos neurodegenerativos. A superóxido dismutase (SOD) tem ação neuroprotetora realizando a dismutação do O₂⁻; porém um desbalanço nestes mecanismos de defesa podem gerar mais radicais livres.

Objetivos: Avaliação da via de formação do ONOO⁻ através da determinação da atividade da NOS em plaquetas e da SOD em hemácias no envelhecimento e na DA.

Métodos: As atividades da NOS e da SOD foram avaliadas em 30 adultos saudáveis (22 mulheres, 26,0±9,89 anos), 30 idosos saudáveis (20 mulheres, 70,0±5,96 anos) e 30 pacientes com DA provável moderada ou grave (23 mulheres, 76,0±7,09 anos). A atividade da NOS foi determinada através da conversão de ³H-arginina em ³H-citrulina e a determinação da atividade da SOD através do kit da Calbiochem®, que se baseia na auto-oxidação alcalina de um substrato (R1) a qual é acelerada pela SOD que leva à formação de um cromóforo (525nm).

Resultados: Houve aumento da atividade da NOS plaquetária (43,6%; p< 0,001) no envelhecimento. Os pacientes com DA apresentaram tanto aumento da atividade da NOS (14,1%, p< 0,001), quanto da SOD nas hemácias (16,4%, p<0,05) em relação aos idosos saudáveis.

Conclusão: Nossos resultados apontam para o envolvimento do ONOO⁻ tanto no envelhecimento quanto na DA. Entretanto, os dados sugerem um maior envolvimento do NO na DA.

Apoio: FAPESP

04.172

MODELO EXPERIMENTAL DE CISTITE HEMORRÁGICA(CH) INDUZIDA PELA INJEÇÃO INTRAVESICAL(IVE) DE ACROLEÍNA(ACR). Batista, CKLP¹; Souza, MLP¹; Leitão, BTA¹; Brito, GAC²; Cunha, FQ³; Ribeiro, RA¹. Deptos¹ Fisiologia e Farmaco; ²Morfologia-UFC, ³Farmaco USP-RP

Introdução: A ACR, aldeído reativo e tóxico, produzido como metabólito urinário dos antineoplásicos, Ciclo e Ifosfamida, tem sido considerada como possível causa da CH induzida por estas. É proposto que a ACR em contato com o urotélio, levaria ao edema, ulceração, neovascularização, hemorragia e necrose observados na CH. Este estudo descreve um modelo de CH induzida por ACR, validando-o com o uso de um uroprotetor de eficácia clínica comprovada, o ácido 2-mercaptoetano-sulfônico (Mesna).

Métodos: Em camundongos *Swiss* machos (25-30g), a CH foi induzida pela injeção iver de

ACR(0,025; 0,08; 0,25 mg/bexiga), tendo como controle animais que receberam SAL(0,02mL/bexiga) nos tempos de 3;6;12;24h. Avaliaram-se as alterações do peso úmido vesical(PUV), aumento de permeabilidade vascular(PV) pelo extravasamento de Azul de Evans(25mg/kg/iv), análises macro e microscópica(critérios de Gray). Os efeitos do tratamento com Mesna(80mg/kg ip;2mg/bexiga), foram avaliados após 3 e 24h da indução da CH.

Resultados: A injeção ive de ACR induziu aumento no PUV e no PV, estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nas doses de 0,08 e 0,25 mg. A análise macroscópica demonstrou severo edema e hemorragia, confirmados pela microscopia, evidenciando erosão e ulceração da mucosa. O pré tratamento com o Mesna aboliu os eventos inflamatórios da CH induzida por ACR nos tempos de 3 e 24 h, em todos os critérios.

Discussão: A injeção ive de ACR mimetizou a CH induzida pela injeção de Ciclo ou Ifosfamida e o Mesna teve efeito semelhante na proteção da CH, confirmando sua importância clínica. Apoio: CNPq, FUNCAP, FAPESP

04.173

PAPEL PROTETOR DA GLUTATIONA(GSH) EM MODELOS DE CISTITE HEMORRÁGICA(CH).

Leitão, BTA1; Batista, CKLP1; Souza, MLP1; Brito, GAC2; Cunha, FQ3; Lioila, R.T.; Ribeiro, RA1. Deptos 1Fisiologia e Farmacologia, 2Morfologia-UFC, 3Farmacologia USP-RP

Introdução: Ciclo e Ifosfamida (IFO) são agentes antineoplásicos que apresentam como fator limitante de seu uso a CH. A causa da lesão vesical parece ser a acroleína(ACR), metabólito urinário destas drogas. A GSH está presente nas células como mecanismo bioquímico de proteção à toxicidade induzida por agentes reativos como a ACR. Este estudo avalia o papel da GSH na proteção da CH induzida por IFO e ACR. Métodos: Camundongos Swiss machos(25-30g), foram tratados com GSH(500mg/kg/ip) imediatamente antes da IFO(400mg/kg/ip), ou com GSH (500mg/kg/ip ou 2mg/ive) junto com a injeção intravesical(ive) de ACR(0,08mg). CH foi avaliada após 12h da IFO ou 3 e 24hs da ACR, pela alteração do peso úmido vesical(PUV), análises macro e microscópica(critérios de Gray). Resultados: IFO induziu aumento do PUV(187%, $p < 0,01$) e a GSH inibiu este aumento (80%, $p < 0,001$), alterações micro e macroscópicas também foram inibidas ($p < 0,05$). ACR também induziu aumento do PUV(106%, $p < 0,001$) o qual foi inibido ($p < 0,001$) pela GSH em ambas vias de administração, nas 3 hs 100%(ip e ive) e nas 24hs 87%(ive) e 84%(ip), alterações micro e macroscópicas também foram inibidas ($p < 0,05$). Discussão: Temos demonstrado a participação de citocinas (TNF e IL-1) e do NO na patogênese da CH induzida por IFO, sendo o último o provável mediador final, mas não se conhece o mecanismo molecular preciso do NO na CH. Propomos que o NO esteja depletando GSH, assim diminuindo as defesas intracelulares, resultando em importante dano oxidativo/nitrosativo presente na lesão induzida por ACR. Apoio: CNPq, FUNCAP e FAPESP.

04.174

CELECOXIB(CXB) ASSOCIADO AO ESQUEMA CLÁSSICO COM MESNA POTENCIA A PREVENÇÃO DA CISTITE HEMORRÁGICA(CH) INDUZIDA POR IFOSFAMIDA(IFS). Macedo, FYB; Morais, MM; Bellaguarda, EAL; Brito, GAC; Ribeiro, RA. Depto de Fisiologia e Farmacologia, UFC.

Introdução: CH é um efeito limitante do uso clínico de IFS. Nosso laboratório tem demonstrado o envolvimento de mediadores inflamatórios como NO, PAF e citocinas na gênese da lesão uterina da CH. Nossa proposta é avaliar a associação de inibidores seletivos de COX-2 ao MESNA na prevenção da CH induzida por IFS, já que 30% de pacientes apresentam CH mesmo em vigência do MESNA. Métodos: Para tanto ratos Wistar machos(150-200g, n=6) foram tratados com salina ou MESNA(160mg/kg,vo) juntamente, 2 e 6hs após IFS(400mg/kg,ip). Em outros grupos experimentais, foi associado CXB(1,5mg/kg,vo) às 2 últimas doses de MESNA. Sacrificou-se os animais 24h após a administração de IFS, sendo as bexigas seccionadas junto ao colo. Resultados: Através da análise microscópica e de acordo com os critérios de Gray 24hs após a administração de IFS existiram evidências histológicas de cistite: erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2(2-2). Estas alterações foram abolidas pela associação de 2 doses de CXB ao MESNA com escore de 0(0-0) e relevância estatística ($p < 0,05$), resultados melhores ($p < 0,05$) àqueles obtidos com 3 doses de MESNA, com escore de 1(0-1). Conclusão: De acordo com os achados, sugere-se que CXB pode vir a ser testado em associação às 2 últimas doses de MESNA em protocolos clínicos prevenindo a ocorrência de cistite sub-clínica. Apoio financeiro: CNPq e FUNCAP.

04.175

PENTOXIFILINA(PTX) ASSOCIADA AO MESNA NA PREVENÇÃO DA CISTITE HEMORRÁGICA(CH) INDUZIDA POR IFOSFAMIDA(IFS). Bellaguarda, EAL; Bulcão-Macedo, FD; Macedo, FYB; Brito, GAC; Ribeiro, RA. Depto. Fisiologia e Farmacologia, UFC.

Introdução: A CH é um efeito limitante do uso clínico do antineoplásico IFS. O MESNA(2-mercaptoetanosulfato sódico) é a droga de escolha para a redução da incidência deste efeito. Dados anteriores do laboratório demonstraram que o NO, PAF, TNF-alfa e IL-1 são mediadores cruciais envolvidos nos eventos inflamatórios da CH, e também no dano uterino e hemorragia. Este estudo avaliou o efeito da PTX, uma metilxantina inibidora de TNF-alfa associando-a ao MESNA, comprovado uroprotetor da CH. Métodos: Nos grupos controles, ratos Wistar machos(150-200g, n=6) receberam uma injeção intraperitoneal (ip) de solução salina ou MESNA (80 mg/kg, ip) juntamente, 4 e 8 horas após IFS, sendo as bexigas seccionadas junto ao colo. Resultados: Através da análise microscópica e de acordo com os critérios de Gray, 24h após a administração de

IFS existiram evidências histológicas de cistite: erosão de mucosa com ulceração, deposição de fibrina, hemorragia, edema e infiltração leucocitária, recebendo escore de 2(2-2). Estas alterações foram abolidas pela associação de 2 doses de PTX ao MESNA com escore 0(0-0) e relevância estatística ($p < 0,05$), resultados melhores ($p < 0,05$) àqueles obtidos com 3 doses de MESNA, com escore 1 (0-1). Conclusão: Diante dos achados, o tratamento com a PTX associada às 2 últimas doses de MESNA é mais eficiente que o esquema clássico com o MESNA, podendo vir a ser testado em pacientes prevenindo a ocorrência de cistite sub-clínica.

04.176

ASSOCIAÇÃO DE DEXAMETASONA(DEXA) AO MESNA POTENCIA A PREVENÇÃO DA CISTITE HEMORRÁGICA(CH) EM PACIENTES SUBMETIDOS À QUIMIOTERAPIA(QT) À BASE DE IFOSFAMIDA(IFS). Lima, MVA; Macêdo, FYB; Ribeiro, RA. Instituto do Câncer do Ceará. Depto de Fisiologia e Farmacologia-UFC.

Introdução: Dados prévios de nosso laboratório mostraram que DEXA é capaz de prevenir os fenômenos inflamatórios na CH experimental induzida por IFS. Com base nesses resultados realizamos um ensaio clínico prospectivo. Metodologia: 38 pacientes randomizados submetidos à QT com IFS(1,2g a 2,0g/m²/dia-3 a 5 dias), sendo excluídos aqueles previamente tratados com IFS, ou glicocorticoides nas últimas 4 semanas, radioterapia pélvica ou patologia do trato urinário. Foram divididos em 3 grupos. O grupo referência(pacientes antes do tratamento com IFS), grupo tratado com IFS e MESNA, e o grupo onde se associa DEXA(4mg) às 2 últimas doses de MESNA. Os dados eram coletados através do sumário de urina(SU), cistoscopia(C) e análise microscópica(AM). Resultados: Observou-se que MESNA não preveniu o surgimento de inflamação na C ($p < 0,01$) quando comparado ao grupo referência, apesar de clinicamente não existir CH. Na AM, MESNA não conferiu proteção completa contra a urotoxicidade da IFS. Porém, quando se associa DEXA às 2 últimas doses de MESNA há uma tendência a minorar os achados inflamatórios na C, mesmo com $p > 0,05$. Na AM, essa associação preveniu significativamente os achados inflamatórios ($p < 0,01$) quando comparada ao uso tradicional de MESNA. A hematúria presente no SU, independente do tratamento, não mostrou diferença estatística. Conclusão: MESNA não previne totalmente a inflamação na bexiga induzida pela IFS. A associação de DEXA reduz significativamente essa inflamação. A análise do SU, não demonstrou diferença significativa, indicando que a hematúria não é um parâmetro confiável para avaliar CH.

04.177

FUNÇÃO QUIMIOTÁTICA DE NEUTRÓFILOS EM PACIENTES COM CÂNCER DE MAMA SUBMETIDAS À QUIMIOTERAPIA. ¹Mendonça, M.A.O.; Bachin, E.S.; Davi, L.B.; ²Murta, E.F.C.; ¹Tavares-Murta, B.M. ¹Depto Ciências Biológicas e ²Depto Materno-Infantil, FMTM, Uberaba-MG.

Introdução/Objetivos: Pacientes com câncer apresentam aumento na incidência e gravidade de infecções, principalmente quando submetidos à quimioterapia. Os neutrófilos emigrados para o local de lesão atuam como células de defesa. O objetivo foi estudar a quimiotaxia de neutrófilos em pacientes com câncer de mama, antes e após quimioterapia.

Métodos/Resultados: Foram estudadas 11 pacientes com câncer de mama e 13 mulheres sadias como controles. Os neutrófilos foram purificados do sangue venoso e a função quimiotática estudada em microcâmara de quimiotaxia. As células emigradas (n° de neutrófilos/campo) foram coradas e contadas (10 campos) em microscópio. Não foram observadas diferenças na resposta quimiotática ao FMLP, mas houve redução da quimiotaxia dos neutrófilos de pacientes ($14,6 \pm 3,2$) frente ao LTB_4 , comparado aos controles ($29,2 \pm 4,7$). Não foram encontradas diferenças nos níveis séricos de metabólitos de óxido nítrico entre controles e pacientes. Em 7 pacientes com estadiamento indicativo de quimioterapia neoadjuvante (5-fluoruracil, adriamicina e ciclofosfamida), foi feita a avaliação da função quimiotática do neutrófilo, ao final do 5º ciclo. Foi demonstrada redução da capacidade quimiotática dessas células ao FMLP ($11,95 \pm 5,2$), resposta anteriormente preservada ($38,3 \pm 10,9$). Dentre estas pacientes, 4 (57%) desenvolveram algum tipo de infecção.

Discussão/Conclusões: Pacientes com câncer de mama apresentam redução da quimiotaxia de neutrófilos ao LTB_4 , mas não ao FMLP, sugestivo de alteração na capacidade de resposta inflamatória induzida pela doença. A quimioterapia reduz a resposta quimiotática ao FMLP, antes preservada, o que pode justificar o aumento da incidência de infecções nessas pacientes, durante o tratamento quimioterápico.

Fonte Financiadora: FAPEMIG

04.178

QUANTIFICAÇÃO DE CITOCINAS E LEUCÓCITOS EM PACIENTES COM TUMORES OVARIANOS CÍSTICOS. ¹Tavares-Murta, B.M.; Davi, L.B.; Bachin, E.S.; ²Cunha, F.Q., ²Murta, E.F.C. ¹Depto Ciências Biológicas e ²Materno-Infantil, FMTM, Uberaba-MG, ³Depto Farmacologia, FMRP-USP.

Introdução: Leucócitos e mediadores presentes em líquidos neoplásicos são úteis na avaliação de interações com as células tumorais. O objetivo foi quantificar leucócitos e citocinas no líquido cístico de pacientes com tumores ovarianos císticos.

Métodos/Resultados: Foram analisados 56 casos cirúrgicos de pacientes com tumores ovarianos císticos. Desses casos, 24 (42,86%) foram não neoplásicos, 22 (39,29) neoplásicos benignos e 10 (17,85) neoplásicos malignos. Após exérese e punção do líquido cístico, este foi centrifugado, feita a contagem de leucócitos e dosagem de citocinas (ELISA). Foi observado aumento do n° de leucócitos ($\times 10^6/ml$) nos tumores malignos ($1,01 \pm 0,59$) comparado aos benignos ($0,19 \pm 0,035$) ou tumores não neoplásicos ($0,24 \pm 0,08$). Em 50% dos casos malignos foi observada a presença de outros leucócitos (principalmente neutrófilos), além de mononucleares, comparado às neoplasias benignas (30,4%) ou tumores não neoplásicos (20,8%). A dosagem de

citocinas mostrou aumento significativo nos níveis de IL-6, IL-8 e IL-10 no grupo neoplásico (maligno e benigno, $n=27$) comparado ao não neoplásico ($n=13$). A comparação entre neoplasia benigna versus maligna demonstrou aumento significativo dos níveis locais de IL-6 (ng/ml) nos casos malignos (medianas: $375,9 \times 1320$, respectivamente).

Discussão/Conclusões: Nas neoplasias ovarianas houve aumento dos níveis de IL-6, IL-8 e IL-10, comparado aos tumores não neoplásicos. Nos casos malignos, observou-se aumento do número de leucócitos (mononucleares e neutrófilos) de IL-6, comparado aos demais grupos.

Apoio financeiro: CNPq

04.179

AValiação dos Efeitos da Amifostina (AMF) na Mucosite Oral (MO) Induzida por Quimioterápicos Antineoplásicos em Hamsters. Sales, MVR¹; Mota, MLS¹; Costa Filho, JD¹; Lima, V.; Brito, GAC²; Ribeiro, RA¹. Dpto de Físio e Farmaco¹/Morfoloogia²-UFC.

INTRODUÇÃO: MO é um efeito colateral da quimioterapia do câncer, sendo considerado um fator limitante da dose terapêutica e reduzindo a qualidade de vida do paciente. Este trabalho avalia o efeito da AMF, derivado tiol com atividade de citoproteção comprovada em tecidos como rim e medula óssea, na MO experimental induzida por 5-FU em hamsters Golden Siriam. **MÉTODOS:** Induziu-se a MO com doses de 60 e 40mg/kg ip de 5-FU nos dias 1 e 2 respectivamente. No 4ºd foram realizadas escorificações na mucosa jugal para potencializar a MO. O sacrifício dos animais deu-se no 10ºd com análise macroscópica e histopatológica das mucosas e contagem total e diferencial de leucócitos do sangue. Os animais foram pesados diariamente e divididos em grupos de 10, de acordo com a dose de SAL ou AMF (100, 200, 400mg/kg sc) aplicada 1h antes da injeção de 5-FU. **RESULTADOS:** Na análise macroscópica, a AMF reduziu significativamente a hiperemia da mucosa, dilatação, congestão vascular e a presença de úlceras e abscessos [AMF 400mg/kg: Md = 1,5(1-3) AMF 200mg/kg: Md 1,5(1-2) vs SAL: Md = 3(2-3) ($p < 0,05$)]. Os dados foram confirmados pela análise histopatológica [AMF 400mg/kg: Md = 1(1-2); AMF 200mg/kg: Md = 1(1-2) vs SAL: Md = 3(2-3) ($p < 0,05$)]. Houve redução da leucocitose no 10ºd [AMF 400mg/kg = $3,185 \times 10^3 \pm 0,437$ vs. SAL = $17,767 \pm 2,644$ ($p < 0,05$)], diminuindo o número de neutrófilos. As doses de AMF 100 e 200mg/kg, reduziram significativamente a perda de massa corpórea. **DISCUSSÃO:** A AMF reduz a inflamação da MO, sugerindo efeito citoprotetor local da mesma e/ou modulação da resposta medular. Apoio Financeiro: CNPq; CAMED-UFC

04.181

TESTE DE LACTULOSE/MANITOL PARA AVALIAÇÃO DE AUMENTO DE PERMEABILIDADE INTESTINAL EM PACIENTES COM Câncer SUBMETIDOS A QUIMIOTERAPIA. Mota, MLS¹; Costa Filho, JD¹; Sales, MVR¹; Brito, GAC²; Ribeiro, RA¹. Dpto de Físio e Farmaco¹/Morfoloogia²-UFC

INTRODUÇÃO: A mucosite é um efeito colateral

comum ao uso de antineoplásicos, podendo afetar áreas distintas do TGI resultando em estomatite, dispepsia e/ou diarreia que, somado à neutropenia pode culminar em quadro clínico grave. Os métodos não invasivos para estudo da agressão à barreira intestinal estimam o impacto da disfunção provocada por qualquer agente agressor. O trabalho pretende validar um modelo com a utilização de marcadores fisiológicos como lactulose (indicador de permeabilidade) e manitol (indicador de absorção) para detectar, acompanhar e mensurar alterações na evolução subclínica e clínica da mucosite intestinal. **MÉTODOS:** 20 voluntários sadios e 27 com câncer no 10ºd pós-quimioterapia causadora de mucosite ingeriram 20mL de solução com 20g de lactulose e manitol, em jejum com posterior coleta de urina durante 5h. Ao volume total acrescentou-se 1mL de clorexidina (2%) e de cada amostra retirou-se 2mL para congelamento e análise em HPLC para mensuração das taxas de excreção dos açúcares. **RESULTADOS:** A concentração de manitol foi menor (14%) nos pacientes que na população sadia, porém sem significância; houve entretanto aumento na excreção de lactulose (≈ 10 vezes) nos pacientes, $p < 0,05$. A razão lactulose/manitol foi 11 vezes maior nos pacientes. **DISCUSSÃO:** A excreção aumentada de lactulose nos pacientes submetidos à quimioterapia sugere que estes apresentam alteração na permeabilidade intestinal, validando o presente teste como forma de avaliação do comprometimento intestinal, permitindo também a avaliação de substâncias citoprotetoras.

Apoio: CNPq; CAMED-UFC

04.182

PRODUTOS GÊNICOS DO RECEPTOR B2 DE BRADICININA (BK) EM DIFERENTES IDADES FETAIS E EM RATOS ADULTOS. De França, C.; Geroldo, E.; Maruo, E.; Lindsey, C. Dept. de Biofísica, UNIFESP, SP.

Introdução: A região codificadora da proteína do receptor B2 de cininas está localizada no exon 3 em humanos e camundongos e no exon 4 em ratos. Há evidências de que ocorra o processamento alternativo no mRNA primário, resultando em dois produtos gênicos, um contendo exon 3 e o outro não. Com o objetivo de verificar a ocorrência destes dois produtos gênicos, analisamos o mRNA maduro através de tecidos centrais e periféricos. **Métodos e resultados:** Foi utilizado o RNA purificado dos tecidos centrais e periféricos e de embriões de diferentes idades. A reação da transcriptase reversa (RT-PCR) utilizando primers dirigidos a cauda poli-T e hexamers random. Para a amplificação gênica (PCR) foram utilizados 4 pares de primers específicos para as regiões codificadoras e não-codificadoras. A partir do mRNA maduro de tecido periférico e central ratos adultos foram obtidos fragmentos de ~700 bp (exon1-4); ~170 bp (exon2-4); ~250 bp (exon3-4) indicando a não ocorrência do processamento Alternativo. No RNA total encontraram-se produtos de ~700/900pb, ~170/380pb, ~250/1000pb; somente um fragmento de ~1100pb (intron2-exon4) evidenciando que o exon 3 é o último fragmento a ser retirado. Em mRNA de tecido fetal encontrou-se apenas produto de amplificação sem o exon 3 a partir do 10º dia de idade fetal. **Discussões:** Não há evi-

dências de processamento alternativo dos produtos gênicos do receptor B2 de BK em diferentes tecidos de ratos adultos ou fetos, portanto o gene teria apenas 3 exons. A expressão de receptores B2 em ratos ocorre provavelmente a partir do 9º a 10º dia de vida embrionária. Apoio financeiro: FAPESP/CAPES

04.183

EXPRESSÃO GÊNICA DE RECEPTORES DE CINININAS E TAQUICININAS NO NÚCLEO PARATRIGEMINAL (Pa5) E NÚCLEO DO TRATO SOLITÁRIO (NTS). Geroldo, E.; De Franca, C.; Silva, D.; Lindsey, C. J. Depart. de Biofísica, UNIFESP/SP.

Introdução: As taquicinininas e neurocininas são peptídeos com função de neurotransmissão e neuromodulação no SNC. Como o SNC, no sistema nervoso periférico estes neuropeptídeos tem atividade cardiovascular. A bradicinina (BK), des-Arg9-BK, substância P (SP), substância K e neuro-medina agem respectivamente nos receptores (r) B2, B1, NK1 > NK2 > NK3, NK2 e NK3. O objetivo é estudar a expressão dos produtos gênicos destes receptores no Pa5 e NTS de ratos tratados ou não com lipopolissacarídeo bacteriano (LPS). Métodos e Resultados: Foi usado RNA purificado de Pa5 e NTS para a reação de transcriptase reversa (RT), utilizando primers dirigidos a cauda poli-T. A amplificação PCR foi realizada com primers exon-exon específicos para os produtos gênicos. Foram obtidos produtos de aproximadamente 700, 590 e 485pb correspondendo aos segmentos codificadores dos rB2, NK1 e NK3. A análise semi quantitativa mostrou maior densidade de produto amplificado referente ao rB2 (26 %) em tecido do Pa5. Em animais tratados com LPS (2,5 mg/kg, iv) também foi detectado o fragmento de 918pb correspondente ao produto gênico codificador do rB1 não sendo alterado a expressão dos outros produtos. Discussão: Através da análise dos produtos gênicos foi inferida a expressão constitutiva mRNA do rB2 de cinininas, rNK1 e NK3 de taquicinininas no Pa5 e NTS de ratos, assim como a indução da expressão de rB1. Não há evidência da expressão do rNK2 em estruturas bulbares. A expressão constitutiva destes receptores explicaria os efeitos cardiovasculares dos neuropeptídeos BK e SP. Apoio Financeiro: FAPESP/CAPES.

04.184

EFFECT OF LPS ADMINISTRATION ON MOUSE HEART, LUNG AND SPLEEN GENE-EXPRESSION. Capaz, F.R.* & Saban, R. Depto. de Fisiologia e Farmacologia – Faculdade de Medicina – Universidade Federal do Ceará –Department of Physiology, The University Oklahoma Health Sciences Center

Introduction: Studies developed in the sense of evaluate the effects of LPS administration on cDNA microarray analysis of gene expression in multiple organs, at the same time, are not at the moment, very frequent in the literature. We used cDNA microarray analysis to evaluate LPS-induced alteration in gene expression in the heart, lung and spleen of Balb/c mice.
Methods: Mice were injected intraperitoneally

with LPS (5ug/100g) and 24 hours after RNA was extracted from spleen, lungs, and heart for determination of gene expression by cDNA expression arrays.

Results: In the spleen, LPS treatment induced up regulation of genes associated with LPS receptors, TNF-alpha, IL-1 and many others cytokines and chemokines. The spleen exhibited the higher number of up regulated genes. In the heart, the cDNA microarray analysis showed an expressive up regulation of genes linked with adrenergic and cholinergic signal transduction. In contrast, the majority of genes present in the array were down regulated in the lung.

Discussion: Taken together, these results indicate that LPS induces a organ-dependent gene expression with outstanding effect in the spleen, followed by the heart, and minimal effect in lungs. These data could be useful to understanding the mechanisms involved in LPS effects as well the important participation of this substance in the multiple organ failure that occurs during sepsis.

04.185

CALCIUM SENSITIVE POTASSIUM CHANNELS MAY UNDERLIE VASCULAR HYPORESPONSIVENESS TO LPS. Farias., N.C., Borelli-Montigny, G.L., Borges, A.C.R., Fauaz, G., Dina, J.P., Feres, T., Paiva, T.B., Department of Biophysics, Escola Paulista de Medicina, UNIFESP, SP, Brazil.

Introduction: The effect of lipopolysaccharide (LPS) upon the isolated aorta and mesenteric arteries, with and without endothelium from spontaneously hypertensive (SHR) and normotensive Wistar (NWR) rats was studied Methods: Isometric tension and membrane potential responses were measured in intact (E+) and endothelium-denuded (E-) aortic and mesenteric rings. Results and Conclusions: LPS induced vasodilatation in the pre-contracted isolated mesenteric vascular bed of NWR and SHR. This effect was inhibited in both strains by ibero toxin (IBTX), an inhibitor of Ca²⁺-sensitive K⁺ channels (Kca), but L-NNA, a NO-synthase inhibitor, blocked only the SHR responses. Hyperpolarization was induced by LPS in mesenteric artery rings from NWR (both E+ and E-) and SHR rings (only in E+), and was inhibited by IBTX and by L-NNA. However, in NWR E+ rings L-NNA induced a partial inhibition of the hyperpolarizing response, which was caused by simultaneous release of endothelin. Since Kca channels show increased expression and functional enhancement in SHR, relative to NWR aortae, only SHR aortic rings could be stimulated by LPS, inducing a hyperpolarizing response (-91 +/- 0.2mV), which was inhibited by IBTX. It is concluded that the mechanism responsible for the hyperpolarization induced by LPS involves opening of high conductance Ca²⁺-sensitive K⁺ channels.

Supported by FAPESP, CNPq and CAPES.

04.186

EFEITOS DO LASER HÉLIO-NEON DE BAIXA POTÊNCIA NO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO DE FERIDAS INDUZIDAS EM CAMUNDONGOS. Souza, F.M.*; Conti, C.L.*; Gonçalves, W.L.S**.; Novaes, M.A.S**.; Barros, L.P**.; Rocha, W.A.** Departamento de Fundamentos da Fisioterapia /

Departamento de Ciências Fisiológicas - EMES-CAM/UFES - Vitória - ES.

OBJETIVOS: Estudos atuais sugerem que o tratamento com laser Hélio-Neon (HeNe) de baixa potência acelera o processo cicatricial de feridas. Entretanto estes estudos não esclarecem os efeitos biológicos deste laser na inflamação e cicatrização. O objetivo deste trabalho foi analisar os efeitos do laser no processo cicatricial de feridas induzidas na pele de camundongos. MÉTODOS: Foram utilizados camundongos jovens (Webster), divididos em controles e tratados. O tratamento consistiu na irradiação de laser HeNe por emissão direta de 5mW no tecido lesado (sutura), numa dose de 4J/dia por 3 dias. Ao final do tratamento o tecido lesado foi removido para análise histológica. A quantificação foi determinada através da fração volumétrica (FV) em pontos equidistantes e da medida de espessura (ME) em centímetros na epiderme e derme. A qualificação determinada pelo número de estruturas anexas no local da cicatriz. RESULTADOS: Foi visto que o laser HeNe, nesta dose, não possui efeito significativo sobre a ME da epiderme dos controles (6,0 ± 0,8) tratados (6,2 ± 0,4) e da FV controles (142 ± 13) tratados (170 ± 9). Contudo, na derme o efeito é significativo tanto para a ME controles (5,2 ± 0,5) e tratados (2,9 ± 0,4) quanto para a FV do colágeno controles (144 ± 10) e tratados (176 ± 11). Com relação às estruturas anexas da derme também foram observadas alterações significativas na FV dos animais controles (156 ± 11) e tratados (71 ± 7), evidenciando a aceleração do processo. DISCUSSÃO: A análise inicial dos dados sugeriu que o laser HeNe possui um importante efeito na organização do processo cicatricial, além de uma aceleração no tempo de evolução do processo. Todavia estudos adicionais serão realizados para melhor elucidar os mecanismos pelos quais estes efeitos ocorrem. APOIO: EMESCAM/PPGCF-UFES.

04.187

SENSORIAL AFFERENT INPUTS FROM THE MASSETER MUSCLE TO THE BRAINSTEM PARTICULARLY TO THE PARATRIGEMINAL NUCLEUS R. Saviolo Moreira, C. A. Caous, R. L. Smith and C. J. Lindsey. Departamento de Biofísica e Departamento de Morfologia, Universidade Federal de São Paulo, Brasil.

Introduction: A better understanding of the neurophysiologic mechanisms involved in muscle pain is needed. The paratrigeminal nucleus (Pa5) which has been implicated as a constituent of neuroanatomical substrate to mediate orofacial pain, is a known site of primary sensorial trigeminal connections and could play a role mediating nociceptive inputs from the masseter muscle. We investigated the afferents inputs from the masseter muscle to the brainstem region specially to the Pa5. Methods: Anterograde neuronal tracer were applied unilaterally to the posterior deep masseter muscle of rat (10 subjects) and following a five days survival time, the brainstem were extracted, cut (45 µm), incubated in streptavidin and the sections analyzed with a digitalized system. Results: Fibres and terminals were labeled in the lateral reticular nucleus (LRt), caudal level of pars interpolaris and pars caudalis, paratrigeminal nucleus, mesencephalic trigeminal nucleus, ven-

trolateral subnucleus of the pars principalis, parabrachial nucleus, medial longitudinal fasciculus, lateral cervical nucleus and the dorsal horn of C1 to C3. Conclusion: The projections of primary masseter afferent neurons to the Pa5 and others brainstem nuclei which receives efferent outputs from this nucleus shows the possible role of the Pa5 as a relay nucleus in the neural pathway of orofacial pain. CNPq.

04.188

ENVOLVIMENTO DE NEUTRÓFILOS E NO NA FORMAÇÃO DE PEROXINITRITO (PN) NA ARTRITE POR ZYMOSAN (Azy). Souza, LT2; Bezerra, M.M.1; Carvalho, AP2; de Buin, GS1; Rocha, FAC2. Dep. Fisiologia e Farmacologia1 e Medicina Clínica2 (UFC).

Introdução: Na Azy observa-se influxo neutrofilico e liberação de PN. PN, formado por combinação de O₂ e NO, pode ser detectado pela formação de 3-nitrotirosina (3NT). Investigamos o papel dos neutrófilos e de inibidores da NOS (L-NAME -LN e 1400W) sobre formação de PN. Métodos: Ratos Wistar foram submetidos à injeção intra-articular de Zy (1mg). Após 6h avaliou-se no lavado articular o influxo de neutrófilos (atividade de mieloperoxidase-MPO) e a formação de 3NT (ELISA). Resultados expressos em pg/mg de proteína. A neutropenia foi induzida pela administração (i.p.) de anticorpo anti-neutrófilo (AAN) 18h antes do início da Azy. Grupos receberam (s.c.) LN (100mg/kg) ou 1400W (1mg/kg) 30min antes da Azy. Controles (NT) receberam salina. Resultados: AAN reduziu ($p < 0,05$) neutrófilos no sangue periférico ($3,3 \pm 0,6$ neutrófilos/mm³), em relação ao grupo NT ($21,5 \pm 2,2$ neutrófilos/mm³) e no lavado articular (86%). AAN reduziu formação de 3NT ($1,7 \pm 0,4$), comparado ao NT ($5,6 \pm 0,9$). LN ou 1400W reduziram o IC ($1,0 \pm 0,4$ e $0,8 \pm 0,2$, respectivamente), em relação ao NT ($2,5 \pm 0,4$). LN ou 1400W reduziram em 64 e 67%, respectivamente, o acúmulo de neutrófilos no lavado articular. LN ou 1400W reduziram a produção de nitrito ($5,1 \pm 1,1$ e $14,9 \pm 4,1$, respectivamente), em relação ao NT ($47,8 \pm 7,7$). LN ou 1400W reduziram formação de 3NT após 6h de Azy ($3,03 \pm 0,6$ e $2,8 \pm 0,8$, respectivamente), em relação ao NT ($5,6 \pm 0,6$). Discussão: Neutrófilos são responsáveis, pelo menos parcialmente, pela produção de PN; inibidores da NOS inibem a geração de PN na Azy. Apoio: FUNCAP e CNPq.

04.190

CHANGES IN BODY TEMPERATURE INDUCED BY CENTRAL INJECTION OF UROCORTIN (UCN) IN RATS. Figueiredo, M.J.; Penatti, R.C.; Fabrício, A.S.C.; Souza, G.E.P. Lab. Farmacologia, FCFRP-USP

AIM. UCN, a neuropeptide closely related to corticotrophin-releasing factor (CRF) appears to have higher affinity than does CRF for CRF₂ receptors¹, the subtype widely distributed in brain areas including the hypothalamus². Central injection of UCN induces anorexia and promotes energy expenditure through sympathetic stimulation^{3,4}. Here we examined the core temperature (cT) in rats in response to UCN. Since indometha-

cin was ineffective on the cT changes induced by CRF⁵ the effect of this antipyretic was investigated on UCN changes in cT.

METHOD AND RESULTS. cT was measured by radiotelemetry in male Wistar rats (200 g), each 30 min, by 6 h, after icv injection of UCN. The dose of 50 pmol did not modify the cT when compared with that of control rats, while 100 pmol induced a significant increase in cT (from 0.12 ± 0.08 to $0.67 \pm 0.09^\circ\text{C}$, 4th h, $P < 0.05$). On the other hand, the injection of 500 pmol, 1 and 2 nmol induced hypothermia which was more pronounced with 2 nmol (from 0.16 ± 0.08 to $-0.74 \pm 0.1^\circ\text{C}$, 2.5th h). Indomethacin did not change the increase in cT induced by UCN (100 pmol).

CONCLUSION. This study revealed that UCN increases cT in low doses while high doses induces a pronounced hypothermia. The later effect might be related with an increase in glucocorticoids decoupled from an intense hypothalamus-pituitary-adrenal axis stimulation. Moreover, prostaglandins seem not to be involved in the increase in cT induced by UCN.

¹ Nature 1995, 378:287

² Reg Pept 1997, 71:15

³ Science, 1996, 273:1561

⁴ Brain Research 2002, 930:37

⁵ Inflamm Res 2002, 51:24

SUPPORT: FAPESP, CAPES.

04.191

EFEITO DO CELECOXIB NA MUCOSITE INTES-TINAL INDUZIDA POR METOTREXATO (MTX) EM RATOS. Lima, V.; Leite, B.T.A.; Souza, MLP; Brito, G.A.C.; Ribeiro, R.A. Deptos. Fisiologia e Farmacologia1, Morfologia2-UFC.

Introdução: a mucosite intestinal é um dos efeitos colaterais mais importantes e limitantes da quimioterapia do câncer, caracterizada por diarreia, vômito, perda de peso e eventuais hemorragias. Tem sido descrita a participação de COX-2 em diferentes lesões inflamatórias. Portanto, avaliamos o efeito do celecoxib (CLX), um inibidor seletivo da COX-2, na mucosite intestinal experimental (MIE) em ratos. Métodos: a MIE foi induzida em ratos Wistar machos (± 220 g) pela administração de MTX (2,5 mg/kg-sc) durante 3 dias. No 5º dia os animais foram mortos e secções de duodeno (D), jejuno (J) e íleo (I) foram removidas, fixadas em formol a 10% e processadas para H&E. Grupos de 5-6 animais foram tratados com CLX (7,5, 15 e 30 mg/kg-ip) fracionados a cada 12 horas, diariamente. Avaliaram-se: (a) alterações morfométricas ao nível das alturas dos vilos e profundidade das criptas adjacentes (D, J e I). Os valores foram expressos como média de 5-10 unidades de vilos/criptas bem orientadas por secção; (b) variações de massa corpórea; (c) de ingestão de alimento e (d) de consumo de água. Resultados: a MIE causou redução na relação vilos/criptas em D=64%; J=62% e I=54%. CLX (30 mg/kg) protegeu ($p < 0,01$) em D=37%; J=42% e I=30%. A MIE causou perda de massa corpórea, bem como redução do consumo de alimento e de água ($p < 0,05$). O tratamento com celecoxib, entretanto, não foi capaz de reverter esses parâmetros de forma significativa. Discussão: O CLX reduziu as alterações histomorfométricas, sugerindo que a COX-2 possa estar envolvida na patogênese dessas lesões. Apoio financeiro: CNPq.

04.192

ANALISE DO MECANISMO DE AÇÃO ANTINO-CICEPTIVA DA AGMATINA EM CAMUNDON-GOS. Oliveira, G.L.1, Neto, A.1, Spindola, H.M.1, Souza, M.M.1, Rodrigues, A.L.S.2, Calixto, J.B.3, Santos, A.R.S.4 1Universidade do Vale do Itajaí, CCS, Itajaí-SC. 2Depto de 2Bioquímica e 3Farmacologia, UFSC, Florianópolis-SC. 4Curso de Farmácia, UNISUL, Tubarão-SC.

Objetivos: O presente estudo tem como objetivo analisar o efeito antinociceptivo da agmatina (AGM), intermediária da biossíntese de poliaminas, administrada via intraperitoneal (i.p.), na dor induzida pela injeção de ácido acético (AAC) e de capsaicina (CAP) em camundongos, bem como o envolvimento da via L-arginina-óxido nítrico e do sistema opióide no seu efeito antinociceptivo. Métodos e Resultados: Foram utilizados camundongos Suíços (30 a 40 g, N=7-10 por grupo) de ambos os sexos. A AGM administrada via i.p. (1-30 mg/kg, 0,5 h antes) reduziu, de forma dose-dependente, o número de contorções abdominais induzida pela injeção i.p. de AAC (0,6%), com DI50 de 5,6 (3,9-8,0) mg/kg e inibição de 83±4%. A AGM (3-100 mg/kg, i.p.) também foi capaz de reduzir o tempo de lambida e/ou mordida causado pela injeção intraplantar de CAP (1,6 ug/pata) com DI50 de 43,7 (23,5-81,4) mg/kg e inibição de 55±4%. O efeito antinociceptivo causado pela AGM (10 mg/kg, i.p.) foi revertido de forma significativa ($p < 0,01$) pelo pré-tratamento dos animais com L-arginina (600 mg/kg, i.p., precursora do óxido nítrico), mas não pela D-arginina (600 mg/kg, i.p.), quando analisado na nocicepção causada pelo AAC. Além disso, a naloxona (1mg/kg, i.p., antagonista opióide não seletivo) foi capaz de interferir na antinocicepção causada tanto pela morfina (5 mg/kg, s.c.) quanto aquela causada pela AGM (0,1 mg/kg, i.p.) no teste do AAC. Conclusão: Os resultados obtidos neste trabalho estendem os dados da literatura e demonstram que a AGM apresenta significativo efeito antinociceptivo. O mecanismo de ação antinociceptiva da AGM não está completamente elucidado, mas parece envolver a ativação da via L-arginina-óxido nítrico e o sistema opióide sensível a naloxona. Apoio Financeiro: UNIVALI, UNISUL, UFSC e CNPq

04.193

TREATING SEPSIS WITH PAF ACETYLHYDRO-LASE: A NEW POTENTIAL THERAPEUTIC APPROACH. Gomes RN1; Bozza FA3; Amâncio RT1; Larangeira AP2; Stafforini D4; Bastos MS1; Japissá AM3; da Silveira IAFB2, Jessouroun E2, Prescott SM4; Bozza PT1 & Castro-Faria-Neto HC1; 1 Lab. Imunofarmacologia, DFF-FIOCRUZ, RJ; 2LATEB, Bio-Manguinhos; 3CTI-HUCFF/UF RJ; 4Huntsman Cancer Institute, UTAH.

PAF is a potent proinflammatory mediator whose role in the pathophysiology of sepsis has been widely demonstrated. Recently, PAF-AH, the enzyme responsible for PAF degradation, was cloned and its anti-inflammatory effects were demonstrated in an animal model. In this study we aimed to investigate the potential therapeutic effect of PAF-AH on animal models of sepsis. We determined plasma PAF-AH activity in blood samples from human patients with sepsis (17) or septic

shock (38) and showed that plasma PAF-AH activity was reduced in septic shock patients as compared to healthy volunteers (11). Moreover, blood samples were obtained sequentially from animals subjected to CLP procedure or injected intraperitoneally with LPS or *N. meningitidis*. We observed that plasma PAF-AH activity showed a progressive decrease over time in those groups and that correlates with the mortality rate of those animals. In the next set of experiments, we treated animals injected with LPS or subjected to CLP with PAF-AH and observed that this treatment increased the survival rate in approximately 30%. In conclusion, the PAF-AH may represent a novel therapeutic approach in sepsis treatment, probably by decreasing the availability of PAF produced during bacterial infection. Support: NIH, FIOCRUZ, FAPERJ, CNPq

04.194

EFFECTS OF CORTICOSTERONE ON THE PINEAL PRODUCTION OF INDOLEAMINES.

Fernandes, P.A.C.M; Ferreira, Z.S. & Markus, R.P. Dep. Fisiologia, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Brasil.

Introduction: Diurnal variation of chronic inflammatory lesion induced by BCG inoculation is lost after pinealectomy, superior cervical ganglionectomy or adrenalectomy (ADx). Rhythmic production of the metabolite 6-sulphatoxymelatonin is not observed after adrenalectomy, and nocturnal administration of melatonin (MEL) recover diurnal variation. (Lopes et al., *Inflamm. Res* 50: 6, 2001). Aim: Investigate the influence of glucocorticoids on extraneuronal catecholamine uptake (ECU) and MEL synthetic pathway. Methods: Rats cultured pineals were exposed to 1 or 100µM corticosterone (CORT) for 1 h with MAO and COMT inhibitors iproniazid and tolcapone

(ECU) or 48 h (MEL synthesis). The content of adrenaline (10µM, 30s) taken up by the gland, or MEL indoleamines precursors produced by noradrenaline (10nM, 5h) stimulation were measured by hplc. Values are expressed as ng/pineal and ng/well. Results: Adrenaline uptake (1.4 ± 0.24 , n=3) was not blocked by 1µM (1.73 ± 0.65 , n=3) or 100µM (1.69 ± 0.34 , n=3) of CORT. Noradrenaline (10nM)-induced N-acetylserotonin (NAS) production in glands (3.9 ± 0.8 , n=8) and in the medium (13.99 ± 2.93 , n=8) was increased 2.5 fold by CORT (1µM or 10µM; 48h). A higher dose of corticosterone (100µM) had no effect. The production of 5-hydroxytryptophan, serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid were not modified by any CORT dose. Conclusion: Our data indicate that ECU was not affected by 1h incubation of CORT, while a longer incubation of lower doses of CORT is able to increase the activity of arylalkylamine N-acetyltransferase, which converts serotonin to NAS, the immediate precursor of melatonin. Support: FAPESP, CNPq.