ISSN 1669-5402 (Print)

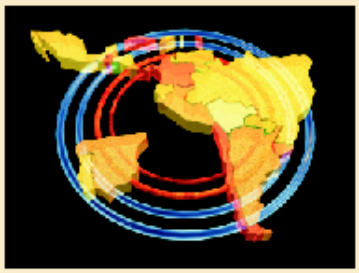
ISSN 1669-5410 (Online)

Physiological Mini-Reviews

Edited by the Argentine Physiological Society

Special Number.
Vol. 2, N° 4, November 2006.

XXII Latin-American and First Ibero-American Congress of Physiological Sciences



http://www.mini.reviews.safisiol.org.ar

Physiological Mini-Reviews

[ISSN 1669-5402 (Print); ISSN 1669-5410 (Online)]

Edited by the **Argentine Physiological Society**

Journal address: Sociedad Argentina de Fisiología, Universidad Favaloro, Solís 453 (1078), Ciudad de Buenos Aires, República Argentina.
Tel.-Fax: (54) (0)11 43781151
http://www.mini.reviews.safisiol.org.ar

Physiological Mini-Reviews is a scientific journal, publishing brief reviews on "hot" topics in Physiology. The scope is quite broad, going from "Molecular Physiology" to "Integrated Physiological Systems". As indicated by our title it is not our intention to publish exhaustive and complete reviews. We ask to the authors concise and updated descriptions of the "state of the art" in a specific topic. Innovative and thought-provoking ideas are welcome.

Editorial Board:
Eduardo Arzt, Buenos Aires, Argentina.
Oscar Candia, New York, United States.
Daniel Cardinali, Buenos Aires, Argentina.
Hugo Carrer, Córdoba, Argentina.
Marcelino Cereijido, México City, México.
Horacio Cingolani, La Plata, Argentina.
Adolfo De Bold, Ottawa, Canada.
Osvaldo Delbono, Salem, United States.
Cecilia Hidalgo, Santiago, Chile.
Carlos Libertun, Buenos Aires, Argentina.
Gerhard Malnic, Sao Paulo, Brasil.
Raúl Marinelli, Rosario, Argentina.
Juan Saavedra , Bethesda ,United States.
David Sabatini, New York, United States.

Editor in Chief: Mario Parisi.

Annual suscriptions rates are (see the electronic version for payment instructions):
a. Printed (Institutions): 120 U$S (Air mail).
b. Printed (Individuals): 100 U$S (Air mail. Including Safis Annual fee).
c. Electronic (PDF) (Individuals): 30 U$S (Including Safis Annual fee).
d. Electronic (PDF) (Institutions): 50 U$S.

Preparation and Submission of manuscripts:
Physiological Mini-Reviews will have a maximum of 2500 words, 30 references and 4 figures. Material will be addressed to scientific people in general but not restricted to specialist of the field. For citations in the text and reference list see Cereijido *et al.* Vol 1, N° 1. Final format will be given at the Editorial Office. Most contributions will be invited ones, but spontaneous presentations are welcome. Send your manuscript in Word format (.doc) to mini-reviews@safisiol.org.ar.

Advertising:
For details, rates and specifications contact the Managing Editor at the Journal address e-mail: mini-reviews@safisiol.org.ar.

The "Sociedad Argentina de Fisiología" is a registered non-profit organization in Argentina.
(Resol. IGJ 763-04)

XXII Latinoamerican and First Ibero-American Congress of Physiological Sciences IBERO-ALACF 2006

November 4-7, 2006
Buenos Aires, Argentina

Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas
Sociedad Argentina de Fisiología
Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas

Associated activities:
American Physiological Society Satellite Symposium on Chronobiology
International Heart Research Society Regional Meeting

Sponsored by:
Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica de la Argentina
Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Argentina
International Union of Physiological Sciences
American Physiological Society
Physiological Society (London)
Universidad Favaloro, Argentina

Contents Abstracts for:

Plenary lectures
Thematic Lectures
Symposia Contributions
Poster Presentations

PLENARY LECTURES

PL 01

2006: Anno Mirabilis for Na,K-ATPase and Hormone Ouabain. Marcelino Cereijido. Center for Research & Advanced Studies (CINVESTAV), México.

Unicellulars exchange nutrients and wastes directly with the surrounding water. In metazoan instead, this exchange occurs with an extremely narrow extracellular fluid that would be quickly exhausted of nutrients and spoiled with wastes, were it not for a circulatory apparatus that transfers the fluid in a round trip to transporting epithelia. Transporting epithelia carry out the exchange of substances between our organism and the environment. This transport depends on the ability of epithelial to move ions, sugars, aminoacids, etc. preferentially towards one side of the epithelium (vectoriality). When Du Bois Raymond discovered this property in the XIX century, it was feared that life would never be understood with the laws of physics and chemistry. Later on it was found out that vectoriality is due to the polarized expression of Na,K-ATPase that provokes primary and secondary transports (through co- and counter-transporters). The problem became then, to explain why and how does an epithelial cell express this Na,K-ATPase polarizedly. We have just completed such demonstration, based on the properties of the β-subunit. Furthermore, we also found that ouabain, its "traditional" and highly specific inhibitor, is a hormone that uses Na,K-ATPase as its receptor, and triggers two sets of signals. The first (called P→A) modify the grip of cell-cell attachment. The second constitute the so called NACos, that travel to the nucleus and modify genetic expression.

PL 02

Neural mechanisms underlying motor and cognitive learning. José M. Delgado-García, División de Neurociencias. Depto de Fisiología, Anatomía y Biología Celular, Fac de Ciencias Experimentales, Univ Pablo de Olavide, Sevilla, España.

My presentation will deal with the processing of neuronal activity taking place in the different cellular elements present in motor cortex, hippocampal, and cerebellar circuits during classical eyeblink conditioning. The study was carried out in wild type and transgenic (APP, PS-1, and APP + PS-1 proteins, mGluR1), knock-out (TrkB and TrkC receptors) and spontaneous mutant (GluRγ2 receptor, i.e., Lurcher) mice, and in control rats and cats. Animals were prepared for the chronic recording of the EMG activity of palpebral muscles, for the electrical stimulation of the trigeminal nerve and for the stimulation and recording of the different neuronal elements involved in cortical, hippocampal and cerebellar circuits. Both trace (supposedly related with explicit memory) and delay (supposedly related with implicit memory) related to the hippocampus and the cerebellum, respectively, were used. The synaptic (field) activity of each selected neuronal element was recorded across the successive conditioning sessions, at the CS/US interval. In the same way, the evolution of synaptic field potentials evoked in each postsynaptic element by the electrical stimulation of the corresponding presynaptic terminal was recorded and analyzed. LTP and LTD were evoked *in vivo* in the context of classical conditioning to determine their contribution to associative learning. The evolution of synaptic field potentials of selected neuronal elements across conditioning was compared with those recorded from mutant mice. A selective pharmacological study was carried out regarding the involvement of specific glutamate (AMPA and NMDA), GABA ($GABA_A$) and acetylcholine (nicotinic and muscarinic) receptors on selected neural elements of hippocampal and cerebellar circuits. Results indicate the different contributions of motor cortex, hippocampal, and cerebellar circuits to associative learning.

THEMATIC LECTURES

TL 01

Sildenafil, NHE-1 e infarto de miocardio. Horacio E. Cingolani, Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

El intercambiador Na^+/H^+ miocárdico (NHE-1) es una proteína que se localiza en el sarcolema y tal vez en la membrana mitocondrial. Transporta Na^+ al interior de la célula en intercambio por H^+ intracelular. Es un transporte secundariamente activo, al usar el gradiente de Na^+ determinado por la Na/K-ATPasa. Es culpable de modificar por lo tanto la concentración intracelular de estos dos iones. Su hiperactividad, producida por acidosis intracelular y/o kinasas y fosfatasas capaces de fosforilarlo, induce aumentos del Na_i que secundariamente conducen a sobrecarga de Ca^{2+} a través del intercambiador Na^+/Ca^{2+}. Esta sobrecarga de Ca^{2+} produce efectos deletéreos sobre el miocardio en isquemia/reperfusión y por lo tanto el bloqueo del NHE-1 emerge como una estrategia terapéutica en el infarto de miocardio. Los resultados experimentales, sin embargo, no fueron seguidos por ensayos clínicos que confirmaran sus beneficios. Las posibles causas de estos resultados contradictorios serán analizados. Por otro lado, el sildenafil, bloqueante de la PDE5A es una droga ampliamente usada en la disfunción eréctil y con resultados contradictorios en la isquemia miocárdica. Su posible relación con el NHE-1 no ha sido descripta. Analizaremos las evidencias experimentales y clínicas del bloqueo del NHE-1 en el infarto de miocardio y los efectos de aumentar la actividad de la PKG por inhibir la PDE5A en el fenómeno de remodelamiento miocárdico post infarto y la relación con la actividad del NHE-1.

TL 02

Abstract not available.

TL 03

Functional compensation of calcium channels at synaptic terminals following gene knockout. Osvaldo D. Uchitel, Dep. de Fisiología Biología Molecular y Celular, IFIBYNE, UBA CONICET, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Ciudad Universitaria, Buenos Aires, Argentina.

Several disorders are associated with mutations and deletions in voltage-gated Ca^{2+} channels, including migraine, cerebellar ataxia and epilepsy. Native N- (α_{1B} or Cav2.2) and P/Q- (α_{1A} or Cav2.1) type Ca^{2+} Several disorders are associated with mutations and deletions in Ca^{2+} channels, including migraine, cerebellar ataxia and epilepsy. Native N- (α_{1B} or Cav2.2) and P/Q- (α_{1A} or Cav2.1) type Ca^{2+} channels are differentially expressed across a range of central synapses. Although both N- and P/Q-type Ca^{2+} channels participate in exocytosis at many synapses, P/Q-type predominates at some (neuromuscular junction, calyx of Held) but not all synapses. During early postnatal life multiple Ca^{2+} current subtypes are expressed at the calyx and at the neuromuscular junction but afterwards, the P/Q-subtype dominate. We have examined the physiological relevance of P/Q- and N-type Ca^{2+} channels using transgenic animals in which the pore forming subunit of the P/Q-type Ca^{2+} channel has been ablated (knockout, KO). In P/Q KO mice this developmental switch fails and N-type Ca^{2+} channels contribute to more than 90% of the total Ca^{2+} current by postnatal days 11-15. This compensatory mechanism remains partial since activity-dependent facilitation and G protein receptor modulation is altered in P/Q KO mice. Whereas presynaptic Ca^{2+} currents and evoked transmitter release facilitate with short-interval paired pulses in WT, paired-pulse facilitation of presynaptic Ca^{2+} currents and evoked transmitter release is greatly diminished in the KO, emphasizing the importance of presynaptic Ca^{2+} current activation in short-term synaptic plasticity. Thus, one physiological function of P/Q-type Ca^{2+} channels is to provide additional facilitatory drive, so contributing to maintenance of transmission as vesicles are depleted during high throughput synaptic transmission. We conclude that altered and compensatory channel expression results in alteration in synaptic output, presynaptic neuromodulation and short-term synaptic plasticity. Such effects are likely to lead to profound changes in network activity.

TL 04

Novel physiopathological aspects of aldosterone action. Nicolette Farman, INSERM U772, College de France, Paris, France.

La hormona esteroide aldosterona (aldo) esta involucrada en la regulacion de la reabsorcion renal de sodio y de la presion arterial. Aldo se une al receptor mineralocorticoide (RM), un factor de transcripcion de la familia de los receptores nucleares, produciendo la activacion transcripcional de varios genes. Alteraciones en este mecanismo resultan en una hipertension arterial o en sindromes de perdida renal de sodio. Ademas de su expresion en el tubulo colector renal, el RM se encuentra tambien en celulas no epiteliales, en el cerebro, en el corazon, en el sistema vascular y en la piel. En estos tejidos, la funcion del receptor y de la hormona son desconocidos pero parecen vinculados a ciertas situaciones patologicas. Hemos establecido una serie de ratones trasgenicos que permiten la hiperexpresion cronica del RM (en ausencia de modificacion de aldo y sin hipertension) en un tipo celular escogido, y de manera controlable (inducida por el investigador), con el sistema tet. La expresion del RM en los cardiomiocitos durante la embriogenesis resulta en una alta mortalidad

prenatal, mientras que cuando la overexpresion se inicia despues del nacimiento, los ratones presentan tachicardias ventriculares graves que conllevan una muerte subita; patch-clamp de los cardiomiocitos muestran un remodelage ionico. Este modelo demostra un papel importante del RM en la excitabilidad cardiaca, y da una base logica al uso de antagonistos de aldo en insuficiencia cardiaca humana. La overexpresion del RM en los keratinocitos de la piel de los ratones resulta tambien en 2 fenotipos distintos. La overexpresion embrionaria del RM resulta en una acceleracion de la diferenciacion epidermica con una piel menos permeable y fina; los recien nacidos mueren rapidamente. Expresion post natal del RM no modifica la epidermis pero altera el desarrollo de los foliculos pilares, produciendo una alopecia progresiva con quistes foliculares. Estos resultados llaman la atencion sobre el sistema aldo/RM en patologia cutanea y posiblemente en nuevas vias terapeuticas.

TL 05

Extracción de Datos Sobre el Control Molecular de la Funcion Endocrina del Corazón a Través del Perfil Transcripcional Cardíaco Adolfo J. de Bold and Monica Forero McGrath, Cardiovascular Endocrinology Laboratory, University of Ottawa Heart Institute, Ottawa, Ontario Canada.

Estudios farmacológicos y de ablación genética han demostrado que las hormonas denominadas péptidos natriuréticos (PN) cardiacos FNA y BNP tienen un role crítico en el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular. La hipertensión arterial y la insuficiencia cardíaca congestiva crónica se pueden considerar como estados de insuficiencia relativa de PN. Por lo tanto, el estudio del control de la función endocrina del corazón es de alta relevancia fisiológica y patofisiológica. Comparado con otros sistemas endócrinos, el conocimiento del corazón endócrino es incompleto. Con el propósito de identificar genes relacionados con la función endocrina del corazón llevamos a cabo estudios de expresión diferencial entre atrios y ventrículos usando arrays de oligonucleótidos. La comparación de los perfiles genéticos entre los músculos atriales y ventriculares reveló la presencia de 1415 genes diferencialmente expresados con un corte límite de 1.8. De estos 1415 genes, 837 son de función desconocida. Análisis de función con el resto y con respecto a función de proteínas de tipo G reveló posibles relaciones con canales de K^+ en los atrios. Numerosos otros transcriptos se identificaron como pertenecientes a funciones de tráfico de vesículas y hormonas como así también a otros relacionados con mecanoreceptores posiblemente involucrados en la síntesis, el almacenamiento y la secreción de PNs. De esta manera se establecen bases racionales para formular nuevas hipótesis en la investigación del corazón endocrino.

TL 06

Ca^{2+} signaling in mouse skeletal muscle fibers after mitochondrial and Sarcoplasmic Reticulum poisoning. Carlo Caputo, Pura Bolaños, Alis Guillen. Lab Fisiologia Celular. Centro de Biofisica y Bioquimica. Instituto Venezolano de Investigaciones Cientificas Caracas Venezuela.

Mouse FDB muscle fibers were enzymatically dissociated and loaded with MagFluo-4 AM or Fura-2 AM to measure calcium transients in response to a single action potential or the basal $[Ca^{2+}]_i$, respectively. Treatment of fibers with the mitochondria uncoupler FCCP, 2μM for 2 min, caused depolarization of, and loss of Ca^{2+} from, mitochondria measured with the dyes JC1, and CaOrange-5N respectively. This was followed by a steady increase in $[Ca^{2+}]_i$, from about 70 nM to 350 nM in 200 s, and an S-shaped decline of the Ca^{2+} transient amplitude, which was halved at $[Ca^{2+}]_i$ = 220 nM. This effect was not due to SR depletion, was partially reversible, and was not blocked by the ROS scavenger Tiron.The time course of the decay phase of Ca2+ transient was not much affected. Treatment with the SR Ca^{2+} ATPase inhibitor CPA, 2 μM, caused the expected prolongation of the transient decay phase, and a progressive increase in the inter-stimuli $[Ca^{2+}]_i$ during repetitive stimulation at low frequency (0.2 or 0.5Hz). This increase in $[Ca^{2+}]_i$ was accompanied by a less prominent, linear decrease in the Ca^{2+}transient amplitude, with 40 % reduction occurring at a $[Ca^{2+}]_i$ of about 500 nM. The results indicate that: a) steady increases in basal $[Ca^{2+}]_i$ are more effective than transients increases in reducing Ca^{2+} transient amplitude; b) Ca^{2+}dependent inactivation of Ca^{2+}release may contribute to but cannot be the sole cause of the FCCP effect, and c) mitochondria do not play an important role in Ca^{2+} clearance during a single twitch, but may contribute to Ca^{2+} signalization in mammalian skeletal muscle fibers. (FONACIT S1-2000000504, G-2001000637).

TL 07

Mechanism and regulation of renal K transport: role of Maxi-K channels. G. Malnic[1], JBO Amorim[2]. [1]Depto.de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, [2]Fac. Odontologia S. J. dos Campos, UNESP.

The larger part of ingested potassium is excreted by the kidney, keeping extracellular levels of this ion at a low concentration, of the order of 4 mM. The most important of the renal tubule segments involved with potassium secretion are the connecting segment of the distal nephron and the cortical collecting duct. We are going to discuss some of the mechanisms of potassium secretion found in these segments. Secretory potassium (K) fluxes were measured in renal distal tubules in Wistar rats and in Romk-channel knock-out mice during “in vivo” stationary microperfusion using K-sensitive double barreled, K/reference microelectrodes. Vasopressin (AVP 10^{-11} M) increased K secretion (JK) by 43% acting via luminal V1 receptors; 8-Br-cAMP reduced JK, and the phorbol ester PMA stimulated JK. Cell Ca^{2+} was markedly reduced by Bapta, an intracellular calcium chelator, impairing the action of AVP. This suggested

that the stimulating effect of luminal AVP and K loading might be mediated by the PLA/IP3/Ca^{2+}/ PKC signaling path by activation of Ca-dependent maxi-K channels. In the Romk deficient, type II Bartter's mouse, potassium reabsorption in the loop of Henle was markedly reduced. In late distal tubule K secretion was 42% of controls, and reduced to practically zero after inhibition by iberiotoxin, a specific inhibitor for maxi-K channels. In conclusion, data on the signaling path mediating peptide effects suggest that, besides Romk channels, Ca-dependent maxi-K channels participate in distal K secretion. In addition, experiments with Romk knockout mice show that these animals maintain a sizeable rate of distal K secretion by expression of maxi-K channels.

TL 08

Smart smooth muscle viscoelasticity helps to protect more efficiently the arterial wall. Ricardo L. Armentano, Juan G. Barra, Franco M. Pessana, Damian Craiem, Sebastian Graf, Daniel Bia Santana, Ramiro A. Sanchez. Facultad de Ingeniería y Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Ciencias Fisiológicas, y Hospital Universitario, Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina.

Pulsatile pressure in arteries produces mechanical oscillations. High frequency vibrations tend to produce mechanical structure injures. Vascular smooth muscle could react modulating viscoelasticity to protect arterial wall. The aim of this study was to evaluate wall energy dissipation through the damping exerted by VSM in the human common carotid artery (CCA) in normotensive (smart dampers turned on), hypertensive (smart dampers in action) and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors-treated hypertensive patients (smart dampers tuned), and in harvested human CCA segments (smart dampers turned off). Human carotid arteries in vitro experiments (n=14) and in vivo studies (n=24) was performed, using adaptive modelling techniques to calculate viscoelastic parameters. Smooth muscle tonus proved to preserve arterial wall damping. Energy dissipation in hypertensive patients (n=12) 3-folded normotensive values and tended to be restored after ACE inhibition, maintaining enhanced arterial wall protection and paying the corresponding energy dissipation "costs". Smart smooth muscle viscoelasticity exerts a protective effect preserving the arterial wall. We suggest that smooth muscle cells, as smart viscoelastic dampers, exert a protective effect against high frequency stretching, adjusting energy dissipation.

TL 09

Angiotensin II: multitasking in the brain. Juan M. Saavedra, section on Pharmacology, National Institute of Mental Health, DIRP, NIMH, DHHS.

The Angiotensin II (Ang II) system, also called Renin-Angiotensin System (RAS), originated early during evolution, and it is present in neurons and immune cells of invertebrates lacking a closed circulatory system. For these reasons it is not surprising to find that Ang II exerts many different functions in addition to blood pressure control, including a role in multiple brain mechanisms, inflammation, growth and apoptosis. The pleitropic effects of Ang II come about through the function of multiple local RAS systems, including one in the brain. Thus, in addition to controlling systemic blood pressure by peripheral and central mechanisms, Ang II has several additional roles in the brain, including the regulation of cerebrovascular flow and the reaction to stress. In order to clarify the central effects of Ang II and its physiological AT_1 receptors, we studied the effects of pretreatment with the AT_1-receptor blocker, candesartan, on experimental ischemia, cerebrovascular remodeling, and inflammation in spontaneously hypertensive rats (SHR), and the responses to stress induced by isolation and by cold-restraint. SHR are not only a model of genetic hypertension but a model of chronic inflammation as well. Ang II regulates the brain circulation through stimulation of AT_1-receptors located in the cerebrovascular endothelium and central pathways. SHR express greater numbers of endothelial AT_1-receptors and a central sympathetic overdrive, resulting in pathological cerebrovascular growth, inflammation, decreased cerebrovascular compliance, and enhanced vulnerability to brain ischemia. Sustained central AT_1-receptor antagonism reverses these effects. Sustained reduction of AT_1-receptor stimulation before stress prevents the hormonal and sympathoadrenal stress responses during isolation and prevents the gastric ulceration stress response to cold-restraint, indicating that increased AT_1-receptor stimulation is essential for the full central sympathetic response and the formation and release of corticotrophin-releasing factor (CRF) and arginine vasopressin during stress. AT_1-receptor blocking agents also reverse the cortical alterations in CRF_1 and benzodiazepine receptors characteristic of isolation stress, effects probably related to their anti-anxiety effect in rodents. Sustained reduction of Ang II tone by AT_1-receptor antagonism could be considered as a preventive and therapeutic approach forn brain ischemia and stress-related and mood disorders. Additional preclinical studies and controlled clinical trials are necessary to confirm the efficacy of this novel therapeutic approach.

TL 10

Proceso de envejecimiento. Jesus AF Tresguerres, Ana CF Tresguerres, y Carmen Ariznavarreta. Depto Fisiología Fac de Medicina Univ Complutense

Se presentan una serie de datos que apoyan el papel de la GH, la melatonina, los estrógenos y fitoestrogenos en la prevención del envejecimiento de una serie de sistemas fisiológicos que incluyen el hueso,el metabolismo hepático, la piel el sistema inmunitario y el SNC, haciendo especial hincapié en los mecanismos moleculares.Se han estudiado ratas machos y hembras de 22 meses, que fueron sometidos a distintos tratamientos durante 10 semanas En el SNC aparece con la edad una

disminución del numero total de neuronas en el hilus del giro dentado además de una disminución marcada de la neurogénesis. El tratamiento con GH incrementa el numero de neuronas pero no aumenta la neurogénesis por lo que parece actuar disminuyendo la apoptósis ya que hay un aumento de Bcl2, sirtuina y glutatión peroxidasa,y una disminución de caspasas 3 y 9 y de nucleosomas. Melatonina estrógenos y fitoestrógenos actuan estimulando la neurogénesis y no sobre apoptósis. En el hígado el envejecimiento disminuye la producción de ATP junto con un incremento de la producción de NO, CO y lipoperoxidos (LPO) a la vez que produce un aumento de la fracción citosólica de citocromo C y una disminución de la fracción mitocondrial. El tratamiento con GH aumenta la fraccion mitocondrial y disminuye la citosólica de citocromo C con lo que aumenta el ATP, disminuye el estrés oxidativo y por ende la apoptósis. Los estrógenos mejoran algunas de las funciones deterioradas y también la melatonina, si bien no tan marcadamente como la GH. En la piel, los cambios observados revierten casi totalmente con GH y parcialmente con melatonina y estrógenos. Los queratinocitos en cultivo procedentes de animales viejos muestran un aumento de nucleosomas, caspasa 8 y caspasa 3 y una disminución de Bcl 2 que se restablecen con GH y melatonina

TL 11

Inteacción entre varios mecanismos en la regulación de la función renal y presión arterial. F. Javier Salazar, Analia Loria, Fara Saez, Francico Salazar, Virginia Reverte, M Teresa Llinas. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Murcia, España.

La regulación de la función renal es realizada por numerosos mecanismos entre los que cabe detacar la angiotensina II (Ang II), la actividad simpática, el óxido nítrico (NO) y las prostaglandinas (PGs). Nuestro grupo ha demostrado en numerosos estudios la existencia de una interacción importante entre estos mecanismos en la regulación aguda y prolongada de la función renal. Cuando esta interacción se altera, se produce una disminución significativa de la capacidad excretora renal y por ello se puede desencadenar la aparición de una hipertensión por desplazamiento de la relación presión-natriuresis hacia presiones mas elevadas para poder eliminar la misma cantidad de sodio y agua a través de la orina. Las PGs renales se producen por activación de las dos isoformas de la ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2). Ambas isoformas intervienen en la regulación de la función renal y su participción es mayor cuano se producen cambios en otros mecanismos de regulación como son la actividad simpática, Ang II, NO y bradiquinina. Además, hemos obervado que la COX-2 interviene en la regulación crónica de la función renal cuando está disminuida la ingesta de sodio. No obstante, la vasoonstricción renal que se observa al inhibir la COX-2 cuando está disminuida la ingesta de sodio parece ser parcialmente debida a un aumento de los niveles de leukotrienos y 20-HETE. Recientemente, nuestro grupo también ha demostrado que la función renal es muy dependiente del número de nefronas, y que la alteración de algunos de los mecanismos que intervienen en la nefrogénesis durante el periodo perinatal (COX-2 y Ang II) provoca hipertensión y reduce tanto la capacidad excretora renal como la capacidad renal para responder a estímulos vasodilatadores. Es de destacar el hecho de que la alteración de la función renal es significativamente mayor en machos que en hembras cuando disminuye el número de nefronas durante el desarrollo renal en el periodo perinatal.

TL 12

Angio-miocardiogénesis: del laboratorio a la clínica. Alberto Crottogini. Depto. de Fisiología, Universidad Favaloro, Argentina.

La angiogénesis y miocardiogénesis terapéuticas podrían ser una nueva alternativa para los pacientes afectados de cardiopatía isquémica (la mayor causa de morbimortalidad humana) que, a pesar de estar máximamente tratados y revascularizados, permanecen sintomáticos y con mala calidad de vida. Los métodos investigados son básicamente la transferencia de genes codificantes para factores de crecimiento (terapia génica) y el implante de células madre en los tejidos comprometidos (terapia celular). El primer enfoque apunta a estimular el proceso fisiológico por el cual un tejido isquémico pone en marcha los mecanismos de neoformación vascular y regeneración tisular, mientras que el segundo apunta primariamente a la transdiferenciación de células stem hacia fenotipos vasculares y miocíticos (hipótesis aún no demostrada convincentemente), y secundariamente a que las células stem segreguen factores mitogénicos que actúen parácrinamente sobre las células residentes. Si bien los resultados iniciales con terapia celular generaron gran entusiasmo y una precipitada progresión hacia la experimentación en pacientes, los datos recientes de ensayos randomizados, a doble ciego y con grupo placebo son poco alentadores. La terapia génica tampoco ha mostrado en ensayos clínicos la positividad observada en modelos animales. Sin embargo, su potencialidad y racionalidad fisiológica la hacen merecedora de una profundización en su estudio. En nuestro laboratorio hemos transfectado en modelos porcinos y ovinos de isquemia miocárdica crónica e infarto de miocardio el gen de VEGF, observando que produce efectos angio-arteriogénicos y miocardiogénicos. Evidentemente, tanto la terapia celular cono la génica (o la combinación de ambas) siguen siendo un desafío para la ciencia, y una necesidad para los pacientes.

TL 13

Estimulación de la liberación de calcio por especies redox generadas durante la activación fisiológica de músculo y neuronas. Cecilia Hidalgo, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula y Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

En condiciones fisiológicas, la liberación de calcio desde el retículo sarco/endoplasmático mediada por los canales receptores de ryanodina (RyR) es un requisito esencial para producir la contracción del músculo esquelético y cardiaco, y contribuye también a inducir y mantener la potenciación de largo término (LTP) en neuronas del hipocampo. Los RyR poseen residuos de cisteína altamente reactivos al pH fisiológico intracelular, cuya oxidación aumenta significativamente la actividad de RyR. Las células musculares y las neuronas funcionalmente activas generan especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno, y en hipocampo se ha demostrado que para inducir LTP se requieren ROS. Basándonos en estos antecedentes, investigamos en células de músculo esquelético y en neuronas de hipocampo en cultivo primario, y además en cortes de hipocampo, si los ROS estimulan la liberación de calcio mediada por RyR. Nuestros resultados recientes indican que el peróxido de hidrógeno, un ROS de reactividad moderada, genera señales de calcio mediadas por RyR tanto en células de músculo esquelético como en neuronas de hipocampo en cultivo primario. El peróxido de hidrógeno, mediante la generación de señales de calcio vía RyR, estimula aun en cortes de hipocampo la vía Ras/MEK/ERK/CREB, la que a su vez activa la expresión de genes tempranos como c-fos, c-jun o egr-1 en células en cultivo. Se propone que la conversación cruzada entre señales redox y señales de calcio mediadas por RyR puede jugar un papel importante en estimular la síntesis de proteínas cuando aumenta la actividad muscular, como durante el ejercicio, o cuando se induce plasticidad sináptica de larga duración en el hipocampo. Financiado por FONDAP 15010006.

TL 14

Inflammation in the Pathogenesis of Hypertension and Target Organ Damage (TOD). Oscar A. Carretero, M.D. Hypertension and Vascular Research Division, Henry Ford Hospital, Detroit, Mi, USA.

The role of inflammation in the pathogenesis of hypertension and TOD is controversial, in part, due to the fact that anti-inflammatory drugs have multiple other effects that can either increase of decrease blood pressure (BP). We studied the role of inflammation in hypertension using CC chemokine receptor 2 deficient (CCR2-/-) mice; and also by using a natural occurring peptide, N-acetyl-Ser-Asp-Lys-Pro (Ac-SDKP) with anti-inflammatory and anti-fibrotic properties. Ang II-infusion caused hypertension in wild-type (WT) and CCR2-/- mice, although in the CCR2-/- the increase in BP was delayed. Ang II-induced hypertension caused a significant inflammatory process in the kidney of WT mice while no changes were observed in CCR2-/-. Urinary albumin excretion, renal collagen and glomerular matrix increased and GFR decreased significantly in WT, while no significant changes were observed in the CCR2-/-. Thus, suggesting that in Ang II-induced hypertension, inflammation mediates renal damage. Ac-SDKP exerts its anti-inflammatory effects by inhibiting: 1) differentiation of bone marrow-stem cells to macrophages; 2) activation and migration of macrophages and release of the pro-inflammatory cytokine TNF-α. In various models of hypertension Ac-SDKP reduces inflammation and fibrosis in the heart, aortic media and kidney. Ac-SDKP is reno-protective and inhibit cardiac rupture post MI, these effects could be due in part to its anti-inflammatory properties and are independent of changes in BP since Ac-SDKP has not antihypertensive effects. We also have evidence that the anti-inflammatory and anti-fibrotic effects of ACE inhibitors are mediated by Ac-SDKP. Thus, in hypertension inflammation may participate in the pathogenesis of TOD.

TL 15

Soy isoflavones: Endocine Disruptors or healthy foodsupplements? Wolfgang Wuttke. Clinical and Experimental Endocinology, University of Goettingen/Germany.

Soy and red clover extracts contain high concentrations of isoflavones, particularly of genistein, which bind to both receptors α or ß (ERα and ERß). Lifelong nutrition rich in soy proteins or soy protein isolates appear to exert positive effects on certain health aspects including the development of mammary cancer but the beneficial effects become questionable when soy/isoflavone-rich nutrition starts in later adult life. Stimulatory effects on mammary cancer cell growth *in vitro* and in animals experiments were reported. Mammary gland safety studies in climacteric/postmenopausal women who initiated isoflavone-rich intake for climacteric/postmenopausal complaints/diseases are inconclusive. A 5-year-lasting intake of 150mg of isoflavones resulted in the development of endometrial hyperplasia in 3.37 % of the women in a large placebo-controlled study; such effect was not observed in the placebo group. To the best of our knowledge a total of 28 placebo-controlled studies have been published hitherto in which 22 demonstrated no better effects than placebo on climacteric complaints. On the other hand, most animal experimental and clinical studies indicate a mild antiosteoporotic effect of soy/isoflavones. Taken collectively, soy/red clover/isoflavones appear to have mild estrogenic effects with all advantages and disadvantages of a low dose of estradiol-17ß. Extracts of Cimicifuga racemosa (Black cohosh) have since long been successfully tested in clinical trials on menopausal symptoms. So far 5 double-blind placebo-controlled studies have been conducted, 4 of which showed positive results on climacteric complaints. The most recent studies indicate that Black cohosh extracts have no effect in the mammary gland and in the endometrium but mild antiosteoporotic effects have been reported. The active compounds in Cimicifuga racemosa are not yet identified.

TL SH1

Abstract not available.

SYMPOSIA

SYMP 01-01

Papel del óxido nítrico en la revascularización. Bruno Escalante Centro de Investigación y Estudios Avanzados Unidad Monterrey Cerro de las mitras Monterrey NL

El endotelio sirve como el intermediario primario para la mecanotransducción, rearreglando la arquitectura de las células vasculares para mantener un flujo sanguíneo adecuado, a través del proceso conocido como "remodelado vascular". El posible papel del oxido nitrico (ON)) como mediador en los procesos de revascularizacion es evidenciado por el uso de células endoteliales o por donadores de ON que han demostrado la capacidad del ON de inducir el proceso angiogénico. Por lo que decidimos demostrar el papel del óxido nítrico en el proceso de revascularización y su impacto en la función del órgano isquémico, en condiciones normales y en un modelo experimental deficiente de ON. A ratones de la cepa C57 silvestres y knockout (KO) para la eNOS se les extirpó la arteria femoral de la extremidad inferior izquierda. La cirugía no provocó alteraciones en los animales silvestres isquémicos (100% de recuperación), comparados con los animales control. Sin embargo, en los KO la isquemia provocó necrosis de la extremidad inferior. Los ratones silvestres, después de 14 días de isquemia, no mostraron alteraciones en el patrón de caminado. Los ratones KO, pierden completamente con este patrón y se pierde completamente el caminado normal del ratón, presentando una franca claudicación. Nuestro estudio revela que la inducción tanto de la expresión como de la síntesis de la sintasa de óxido nítrico endotelial durante el proceso isquémico, es crítica para la recuperación del flujo sanguíneo en la extremidad lesionada, así como también lo es para la recuperación de la función motora de la extremidad.

SYMP 01-02

Los receptores imidazolínicos como posibles blancos terapéuticos en el tratamiento de la hipertensión arterial. David Centurión, Luis E. Cobos-Puc, Elsa B. Monroy-Ordoñez, Araceli Sánchez-López y Carlos M. Villalón. Departamento de Farmacobiología, Cinvestav-Coapa, México, D.F., México.

Los fármacos imidazolínicos (clonidina, moxonidina) reducen el tono simpático actuando principalmente en el núcleo rostroventrolateral del tallo cerebral y en menor medida en terminales nerviosas simpáticas periféricas a través de receptores α_2-adrenérgicos, aunque se ha propuesto que también estimulen a los sitios imidazolínicos I_1. El objetivo del presente trabajo fue identificar los mecanismos involucrados en los efectos simpato-inhibitorios inducidos por los agonistas moxonidina (α_2/I_1) y cirazolina ($\alpha_{1/2}$ e I_2). Para tal propósito, se determinaron los efectos de la infusión continua i.v. de salina, moxonidina, cirazolina o B-HT933 (agonista α_2-adrenérgico) sobre las respuestas vasopresoras inducidas por la estimulación simpática del tono vasopressor o por noradrenalina exógena en la rata descerebrada y desmedulada. La moxonidina, cirazolina y B-HT933, pero no la salina, inhibieron de manera dependiente de la dosis los efectos vasopresores inducidos por la estimulación eléctrica, pero no aquellos inducidos por la noradrenalina exógena. El efecto simpato-inhibitorio inducido por la moxonidina, el cual no fue modificado por salina o BU224 (antagonista I_2), fue parcialmente bloqueado por los antagonistas rauwolscina (α_2) y AGN192403 (I_1) y completamente bloqueado por la combinación de rauwolscina + AGN192403. En contraste, la simpato-inhibición de la cirazolina y del B-HT933 fue bloqueada por la rauwolscina pero no por el AGN192403 o BU224. Estos resultados sugieren que el efecto simpato-inhibitorio inducido por la moxonidina es mediado por receptores α_2-adrenérgicos y, en menor grado, por sitios imidazolínicos I_1. La simpato-inhibición de la cirazolina es mediada por receptores α_2-adrenérgicos.

SYMP 01-03

El sistema trigémino-vascular como blanco de acción antimigrañosa. Carlos M. Villalón, Enriqueta Muñoz-Islas, Araceli Sánchez-López & David Centurión. Depto. de Farmacobiología, Cinvestav-Coapa, 14330 México D.F., México

La migraña es un síndrome neuro-vascular asociado con un incremento en los niveles plasmáticos del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). El CGRP, un neuropéptido liberado por las neuronas trigeminales sensoriales, dilata los vasos sanguíneos intra y extracraneales. Adicionalmente, varios agentes antimigrañosos agudos (además de producir vasoconstricción craneal) inhiben la vasodilatación neurogénica dural inducida por estimulación trigeminal. Con estas bases, hemos investigado en perros vagosimpatectomizados las respuestas vasodilatadoras de la carótida externa a la infusion intracarotídea (i.c.) continua de capsaicina, CGRP y acetilcolina antes y después de la administración intravenosa (i.v.) de los agonistas: Sumatriptan ($5\text{-}HT_{1B/1D}$ hidrosoluble), donitriptan ($5\text{-}HT_{1B/1D}$ liposoluble), PNU-142633 ($5\text{-}HT_{1D}$ hidrosoluble) y PNU-109291 ($5\text{-}HT_{1D}$ liposoluble). Las infusiones i.c. de capsaicina (10-56 μg/min), CGRP (0.1-3 μg/min) y acetilcolina (0.01-0.1 μg/min) produjeron incrementos en el flujo sanguíneo carotídeo externo sin afectar la presión arterial. Estas respuestas permanecieron sin cambios significativos ($P>0.05$) después de la administración i.v. de sumatriptan (300 μg/kg), PNU-142633 (300 μg/kg), PNU-109291 (100 μg/kg) o volúmenes

equivalentes de vehículo. En marcado contraste, la administración i.v. del donitriptan (30 μg/kg) atenuó significativamente ($P<0.05$) las respuestas vasodilatadoras a la capsaicina, mas no las producidas por el CGRP o la acetilcolina. Es interesante destacar que la administración i.v. de SB224289 (antagonista 5-HT_{1B}; 300 μg/kg), mas no de BRL15572 (antagonista 5-HT_{1D}; 300 μg/kg), abolió la inhibición producida por el donitriptan sobre la vasodilatación a la capsaicina. Estos resultados permiten concluir que el donitriptan (mas no el sumatriptan, PNU-142633 o PNU-109291) activa a los receptores 5-HT_{1B} en el sistema nervioso central para inhibir la liberación trigeminal de CGRP inducida por la capsaicina.

SYMP 01-04

Acción protectora de hormonas esteroides en el sistema cardiovascular. Mercedes Perusquía, Depto de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.

Los estrógenos han sido considerados como "protectores" del sistema cardiovascular, siendo una de sus principales acciones provocar disminución del tono vasomotor. Esta propiedad vasodilatadora, también ha sido reportada para algunas progestinas y, en años recientes, se le ha atribuido también a los esteroides sexuales masculinos, como la testosterona. En este contexto, la testosterona ha resultado más potente que estradiol y progesterona para inducir vasodilatación y en forma notable, ciertos metabolitos 5-reducidos de la testosterona presentan aún mayor potencia vasodilatadora; identificando al 5β-dihidrometabolito de la testosterona (5β-DHT) como el esteroide con mayor eficacia vasodilatadora. Además, como consecuencia de su agudo efecto vasodilatador, pueden disminuir la presión arterial de manera importante. Los hallazgos anteriores enfatizan que los andrógenos son importantes reguladores del tono vasomotor, lo cuál está sustentado por datos epidemiológicos que muestran que los niveles de andrógenos se encuentran abatidos en hombres hipertensos en relación a sus controles normotensos. Por las evidencias anteriores, el estudio sobre el mecanismo de la acción vasodilatadora de los andrógenos ha sido un tema de creciente interés, documentándose que los andrógenos producen vasodilatación por un mecanismo nogenómico e independiente del endotelio vascular y que pueden estar involucrados en el influjo de calcio y/o eflujo de potasio en la membrana de célula vascular. Es importante destacar que 5β-DHT posee un agudo efecto vasodilatador y vasodepresor, es un andrógeno no aromatizable sin efectos estrogénicos colaterales, con mínima afinidad al receptor de andrógenos y por consiguiente sin acciones androgénicas. Dichas propiedades postulan al andrógeno 5β-DHT como un componente potencial en la terapia de la hipertensión arterial.

SYMP 02-01

Auditory Physiology and Deaffness Genes. Ana Belén Elgoyhen, Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular, CONICET-UBA, Argentina.

Hearing impairment (HI) is the most common sensory disorder. Approximately 1 in 1000 children is born deaf or hearing impaired or develops HI during early childhood. An additional large part of the population experiences progressive hearing impairment by the age of 65. Genetic factors are probably responsible for more than 50% of the cases of early-onset HI, whereas in most cases of late-onset HI a combination of genetic as well as environmental factors is involved. Today, more than 100 nonsyndromic deafness loci have been mapped, and 40 of the responsible genes are identified (G. Van Camp and R.J.H.Smith: Hereditary Hearing Loss Homepage, http://www.uia.ac.be/dnalab/hhh/). Based on their function, deafness-causing genes can be divided into different classes including cytoskeletal components, extracellular matrix components, molecules involved in maintaining ion homeostasis, transcription factors, receptors and their ligands, cellular trafficking proteins, molecules belonging to the cadherin superfamily and genes with an unknown function. The presentation will focus on the known deafness genes in relation to their participation in the normal process of hearing.

SYMP 02-02

Estudio de neuropéptidos del sistema nervioso auditivo central ascendente. Luis A. Aguilar M. Area de Neurociencia. Departamento de Ciencias Morfologicas. Facultad de Medicina Alberto Hurtado. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima. Peru.

Los nucleos implicados en la via ascendente del sistema nervioso central auditivo, presentan neuronas peptidergicas y pueden coexpresar diferentes neuropeptidos. Estas sustancias neuroactivas o neuropeptidos presentan modulaciones diversas dependiendo de la tipologia neuronal peptidergica. Los estudios morfologicos por inmunocitoquímica y densitometria optica, refieren que las vias peptidergicas en este sistema no necesariamente implican a todos los nucleos de la vias ascendente, pudiendose presentar vias directas o indirectas hacia la corteza auditiva primaria o secundaria. Estas vías provendrian de forma ipsi y contralateral de los siguientes centros: nucleos cocleares, complejo olivar superior, lemnisco lateral, coliculo inferior y cuerpo geniculado medial. Se discute la coexpresion de neuropeptidos en las neuronas de los diversos nucleos implicados. La coexpresion de los neuropeptidos con GABA, Glicina y Glutamato, hacen de este sistema un modelo fisiologico complejo.

SYMP 02-03

Procesamiento de la información auditiva en relación con un ritmo ultradiano cerebral, el ritmo theta del hipocampo. Marisa Pedemonte. Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo. Facultad de Medicina, CLAEH, Punta del Este, Uruguay.

Ha sido reconocido que el hipocampo participa en la ubicación espacial asociada a la información sensorial.

La expresión bioeléctrica es el ritmo theta, más prominente en la vigilia (V) activa y el sueño paradójico (SP), está presente también en el sueño lento. Este ritmo ha sido temporalmente correlacionado con fenómenos fásicos durante el SP y con actividad motora en la V activa. Dado que la codificación de la información sensorial necesita de un ordenamiento temporal para ser procesada y almacenada, postulamos que el ritmo theta podría contribuir en dicha organización temporal, participando como un "dador de tiempo" interno. Hemos demostrado que las neuronas auditivas a lo largo de toda la vía muestran descargas relacionadas temporalmente con el ritmo theta (*phase-locked*). Esta correlación aparece y desaparece espontáneamente durante las sesiones de registro asociada a factores conocidos y desconocidos; entre los primeros están los cambios comportamentales y los cambios de atención del animal. Podemos provocar esta correlación temporal cambiando las características de la estimulación. Cuando la entrada sensorial cambia, las ondas theta aumentan su amplitud y aparece la correlación temporal con las descargas neuronales. Estos resultados apoyan la hipótesis de que el ritmo theta del hipocampo estaría al servicio del procesamiento temporal de la información fundamentalmente cuando en la entrada sensorial se produce una "novedad" del estímulo. *Pedemonte M, Velluti RA. (2005) El procesamiento sensorial podría estar organizado en el tiempo por ritmos cerebrales ultradianos. Rev. Neurol, (España), 40(3):166-172. www.revneurol.com. Pedemonte M, Velluti RA. (2005) What individual neurons tell us about encoding and sensory processing in sleep. En: The Physiologic Nature of Sleep. P.L.Parmeggiani, R.A.Velluti (Editores), Imperial College Press (London), pp: 489-508.*

SYMP 02-04

El procesamiento de la información auditiva durante las distintas etapas del sueño. Ricardo A. Velluti. Neurofisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.

La información que ingresa del mundo exterior y del cuerpo, tanto consciente como inconsciente, procede de los receptores sensoriales correspondientes y es evaluada por el SNC. Consideramos que el cerebro dormido impone condiciones para el ingreso y el procesamiento de la información sensorial auditiva; mas aun, la hipótesis presentada se extiende desde el sistema auditivo como válido para todos los sistemas sensoriales. La información sensorial procesada en estado de sueño durante el período temprano de vida (días, meses) debe participar en la maduración del SNC ya que mientras dormimos también ingresan -en gran medida- datos sensoriales. De manera que la actividad sensorial presente durante el desarrollo ontogénico temprano y que ocurre mayoritariamente durante el sueño en un neonato, es un hecho relevante para comenzar a "esculpir"-madurar- el cerebro. El sistema auditivo es un sistema telerreceptor relativamente "abierto" durante el sueño, manteniéndonos en contacto con el ambiente y, muy importante, siendo útil filogenéticamente para la supervivencia de especies con una adecuada reacción frente, e.g., a un predador. Son variados los datos experimentales, tales como registros unitarios, potenciales provocados, magnetoencefalografía provocada, que actualmente avalan la idea de que todo el sistema auditivo continua procesando información durante el sueño, aunque de manera diferente a la vigilia. Los cambios en las descargas neuronales constatados a lo largo de toda la vía serían los mecanismos electrofisiológicos que subyacen a los procesamientos continuos de información sensorial que acontecen aún mientras dormimos. Así somos capaces de percibir un estímulo auditivo, procesarlo, compararlo con información ya en la memoria y tomar decisiones tales como despertar o seguir durmiendo. Además, propongo que algunas neuronas auditivas son muy probables participantes "activas" en algún proceso del sueño.

SYMP 03-01

Regulación de canales iónicos por el oxígeno. José López-Barneo, Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Departamento de Fisiología Médica y Biofísica y Hospital Universitario Virgen del Rocío, Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

Oxygen sensing is of critical importance for cell survival and adaptation of living organisms to changing environments or physiologic conditions. Cellular effects of hypoxia can be acute or chronic. Acute effects depend on O_2-regulated ion channels, which mediate the adaptive circulatory and cardiorespiratory responses to hypoxia. Chronic effects involve the activation of hypoxia inducible factors that regulate the expression of a broad variety of genes. The O_2-regulated ion channels studied in most detail are K^+ channels present, among other tissues, in the carotid body, adrenal medulla, neuroepithelial bodies of the lung or pulmonary resistance arteries. Inhibition of these channels by hypoxia leads to increased cell excitability, contractility or secretory activity. The mechanisms underlying acute O_2-sensing and how the O_2 sensors interact with the ion channels are largely unknown. Whether the O_2 sensor is a membrane-delimited molecule or it is located in some intracellular compartment, i. e. mitochondria, is under debate. We have recently tested some of the mechanisms of acute O_2 sensing using genetically modified animals. Ion channels also contribute to the gene program developed under chronic hypoxia. Hypoxia selectively down regulates the expression of beta subunits of maxi-K^+ channels. In vascular smooth muscle cells, down regulation of the beta1 subunit by hypoxia leads to a decrease of maxi-K^+ channel open probability and of the vasorelaxing force of these channels. In chromaffin cells of the adrenal medulla, down regulation of the maxi-K^+ channel beta2 subunit by hypoxia results in increased cell's excitability and catecholamine release. Dysfunction of O_2-sensing by ion channels could participate in the pathophysiology of several human diseases.

SYMP 03-02

Participación de AQP1 en la regulación de genes por hipoxia. Miriam Echevarría, Ana M. Muñoz-Cabello, Rocío Sánchez-Silva, Juan José Toledo-Aral, José López-Barneo, Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Depto de Fisiología Médica y Biofísica, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Univ de Sevilla, España.

Tradicionalmente se ha asumido que el oxígeno difunde libremente a través de las membranas biológicas. Sin embargo cada vez son mas las evidencias que apuntan hacia la existencia de proteínas que facilitan el paso de O_2 u otros gases en distintas membranas celulares. La abundante expresión de AQP1 en el endotelio de los capilares, así como en los eritrocitos, hacía de esta proteína un candidato interesante. Además, la demostración de que AQP1, expresada heterólogamente o incorporada en vesículas, así como su homólogo en la planta del tabaco (NtAQP1), funciona como canal para el CO_2 nos llevó a estudiar el papel de esta proteína como posible canal para el oxígeno. Como abordaje experimental utilizamos células PC12 transfectadas de forma estable con AQP1. Seleccionamos clones con distinta expresión de AQP1 en su membrana y estudiamos en ellos la estabilización por hipoxia del factor de transcripción inducible por hipoxia (HIF), así como la inducción por hipoxia de la expresión de genes como tirosina hidroxilasa (TH), fosfoglicerato quinasa-1 (PGK1) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Encontramos una relación directa entre la presencia de AQP1 y la mayor estabilización de HIF en hipoxia, además de una mayor expresión de los genes regulados por el nivel citosólico de O_2. En hipoxia, la redistribución del oxígeno intracelular causada por inhibidores mitocondriales produjo una menor desestabilización de HIF en el clon de mayor expresión de AQP1. En el clon de baja expresión de AQP1 el O_2 que se libera de la cadena respiratoria permanece en el citosol por más tiempo facilitando la degradación de HIF. *In vivo*, la expresión pulmonar de AQP1 es aumentada significativamente por la hipoxia. Estos datos sugieren que AQP1 aumenta la permeabilidad al oxígeno de la membrana y de esta forma afecta a la regulación de la expresión de ciertos genes.

SYMP 03-03

Water and ions transport in Rhodnius upper malpighian tubules (UMT) and mammal renal tubules. [1]Antonio M. Gutiérrez, [2]Miriam Echevarría, [1]C. Sofía Hernández, [1]Rafael D. García, [1]Guillermo Whittembury. [1]Lab. Fisiología Renal, IVIC, Caracas, Venezuela. [2]Lab de Investigaciones Biomédicas, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España.

Renal tubules, salivary glands and malpighian tubules, among other epithelia, translocate a great fluid volume of quasi-isosmotic solution. This is accomplished in a system with no significant transepithelial electrochemical gradient. In order to explain the transport rate, we assume that there are several mechanisms to transport ion across of each of the membranes, and water follows the osmotic gradient. The secretion of UMT depends on stimulation with 5-OH-tryptamine. We have proposed a model for secretion in UMT based on the action of transport inhibitors (in parenthesis) and other evidences: **a)** At the basolateral cell membrane (Cis side), fundamental are a Na^+-K^+-2Cl^- cotransporter (Furosemide and Bumetanide) and a Cl^--HCO_3^- exchanger (SITS) **b)** At the apical cell membrane (Trans side), most important are a K^+-Cl^- cotransport (DIOA) that is located for the first time, a V-H^+-ATPase (Bafilomycin A_1); and a Na^+-H^+ exchanger (Amiloride) **c)** We have cloned a water channel from UMT and they have a significant osmotic permeability (pCMBS) even without stimulation. **d)** In steady secretion, UMT cell volume is decreased, an evidence that an osmotic gradient was present. Briefly, this model implies: **a)** 5-HT stimulates the basolateral entry of NaCl and KCl, **b)** the V-H^+-ATPase generates an apical H^+ gradient, promoting Na^+ outflow that, together with the K^+-Cl^- cotransport, results in NaCl and KCl secretion, **c)** water can easily follow ion fluxes. Recently, we have measured increase in cytoplasmic [Na^+] in response to 5-HT followed by a decrease in cytoplasmic pH. Mammal renal tubules share the main features with UMT: Cis transporters and Trans ATPases.

SYMP 03-04

Ionic and metabolic interactions of the Na^+/Ca^{2+} exchanger. A Kinetic model. Reinaldo DiPolo*[+] and Luis Beaugé**[+]. *IVIC, Venezuela, ** Instituto M. y M. Ferreyra, Argentina, and [+]MBL, Woods Hole, USA.

The role of Ca_i regulatory site on Na^+_i- H^+_i-ATP interactions with the Na^+/Ca^{2+} exchanger was explored in intracellular dialyzed squid axons. Without ATP, inhibition by Na^+_i is strongly dependent on H^+_i; lowering the pH_i from its physiological value of 7.3 to 6.9 causes 80 inhibition of Na^+_o/Ca^{2+}_i exchange. In the presence of MgATP, H^+_i and Na^+_i inhibition are markedly diminished. Experiments on Na^+_o/Na^+_i exchange show drastic changes at the Ca_i regulatory site due to Na^+_i- H^+_i and ATP interactions. The increase in Ca^{2+}_i affinity induce by ATP at pH 6.9 can be mimicked by a rise in pH_i from 6.9 to 7.3 in the absence of the nucleotide. These findings are predicted by a model where ATP protects from intracellular proton and sodium inhibition and where: (i) The binding of Ca^{2+} to the regulatory site is essential for translocation but not for the binding of Na^+_i or Ca^{2+}_i to the transporting site. (ii) H^+_i compete with Ca^{2+}_i for the same form of the exchanger without effect on the Ca^{2+}_i transporting site. (iii) protonation of the carrier increases the apparent affinity and changes the cooperativity for Na^+_i binding. (iv) ATP prevents both H^+_i and Na^+_i effects. Experiments with SEA0400, a potent inhibitor of the exchanger which enhances Na_i-inactivation and H^+_i inhibition, is counteract by ATP; this supports the notion of interaction between ionic and metabolic regulation of the Na^+/Ca^{2+} exchanger. Supported by Grants from the US-NSF (MCB 0444598), FONACIT (S1-

9900009046 and G-2001000637) Venezuela, and FONCYT (PICT-05-12397) and CONICET (PIP 5118), Argentina.

SYMP 04-01

Effects of peer instruction on student problem solving performance. Mauricio J. Giuliodori[1], Heidi L. Lujan[2], and Stephen E. DiCarlo[2]. [1]Fisiología, Fac. Cs. Veterinarias, Univ. Nac. de La Plata, Argentina. [2]Dept Physiology, Wayne State Univ. School of Medicine, USA.

We tested the hypothesis that peer instruction enhances student performance on qualitative problem solving questions. Qualitative problems requiring a qualitative prediction (increase / decrease / no change) about the response of a physiological system to a perturbation were included in a peer instruction format during our physiology course. Each class of 90 min was divided into 4-6 short segments (~15 min each). Each short segment was followed by a qualitative problem solving scenario that could be answered with a multiple choice quiz. All students were allowed 1 min to think and to record their answers. Subsequently students were allowed 1 min to discuss their answers with classmates (2-3/group). Students were instructed to provide reasons for their answers and to convince their peers that their answers were correct. Students were then allowed to change their first answer if desired, and both answers were recorded. Finally, the instructor and students discussed the answer. Peer instruction improved student performance on qualitative problem solving questions (59.3±0.5% vs. 80.3±0.4%, $p<0.001$). Furthermore, after peer-instruction, in the group of students having individual correct response (~60% of student population) only 6.5% changed to an incorrect response ($p<0.05$), however in the group of students having individual incorrect responses (~40% of student population) 56.8 % of them changed to a correct response ($p<0.05$). Therefore, students with incorrect responses changed their answers more often than students with correct responses. Furthermore, peer-instruction positive effects (changes from incorrect to correct) were 5.6 times higher than its negative effects (changes for correct to incorrect) (22.4 % vs. 4 %, respectively, $p<0.001$). In conclusion, pausing four to six times during a 90-min class to allow peer instruction enhanced student performance on qualitative problem solving questions.

SYMP 04-02

Abstract not available.

SYMP 04-03

Enseñanza de la Fisiologia: a quién, con quién, cómo, por qué, para qué. Ricardo Montoreano. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela.

El modo de enseñanza de la Fisiología varía según la selección previa de estudiantes, la relación docente-alumno, la disponibilidades de aulas y laboratorios y la relación entre decanos, profesores y estudiantes. Cada fisiólogo tendrá **su** fisiología y **su** experiencia. Eligirá un libro de Fisología entre tantos y lo complemantará con apuntes y guias. Mi primer acercamiento fue desde la Cátedra de Biofísica de la Facultad de Medicina de la UBA (1959 – 1963), con un profesor, tres jefes de trabajos prácticos y unos sesenta ayudantes (preparadores) para una población de 3500 estudiantes. No había clases teóricas, pero si practicas de laboratorio y exámenes rigurosos. La segunda experiencia fue en "La Escuelita" en el Instituto de Investigaciones Médicas (hoy Instituto Alfredo Lanari) con 40 estudiantes (1973-1976) que recibían Fisiología, Biofísica y Bioquímica en el hospital en forma secuencial (una asignatura a la vez). Exilado en 1977, pude, en la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela, aplicar mi idea de una Fisiologia deductiva y razonada. Como los estudiantes aplazados pueden, allí, repetir el curso n veces hablar de 110 regulares y 250 repitientes en Fisiología era común en período 1980-2000. Estas cifras hicieron que las autoridades armaran un "Curso Remedial" (2000) con un mes de instrucción a cargo de un profesor, con lo que se terminó el problema de los repitientes ya que el 99% fue aprobado. Me jubilé en 2002 dejando un problema sin solución, mientras los profesores de los cursos superiores recibian a los "remediados".

SYMP 04-04

Retos en la enseñanza de la Fisiología. Alida Alvarez, Cátedra de Fisiología, Escuela de Medicina "José María Vargas", Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

Se hace un análisis de la enseñanza de la Fisiología en las Escuelas de Medicina de Venezuela, en el contexto de los procesos de cambio a nivel mundial y en los Sistemas de Salud y Educación del país y se plantean algunas sugerencias. Los planes de estudio de los programas de Medicina, en su mayoría han sido formulados pensando más en el proceso que en las características del médico que se quiere formar. En Fisiología se imparten contenidos teóricos excesivos, sin tomar en cuenta la velocidad de generación de conocimientos ni el tiempo necesario para la asimilación de los mismos por parte del estudiante, la enseñanza está principalmente centrada en el profesor y no en el alumno. Existe poca o ninguna integración con las otras Ciencias Básicas, la Clínica y la Salud Pública. El principal método de enseñanza es la clase magistral, con excepción de la UNEFM y del Programa de Medicina Integral Comunitaria que utilizan un mayor número de programas interactivos y otras actividades con mayor participación del estudiante. Para enfrentar los retos impuestos por los cambios señalados, consideramos necesario definir claramente los perfiles por competencias del egresado, tomando en cuenta el contexto social actual, establecer la contribución de la Fisiología y de otras asignaturas en la adquisición de las competencias transversales y específicas, implementar un mayor uso de nuevas tecnologías y de estrategias de enseñanza más participativas,

elaborar un programa de Fisiología integrado a otras asignaturas que permita impartir conocimiento pertinente para el médico y situar toda la información en su contexto y por último hacer énfasis en aprender a aprender. Para lograrlo es necesario un cambio de mentalidad en los profesores y en los alumnos y la voluntad política de las autoridades.

SYMP 05-01

Intercambiador Na^+/H^+ e hipertrofia cardiaca. María C. Camilión de Hurtado. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas de La Plata, Argentina.

La isoforma NHE-1 del transportador Na^+/H^+ es una proteína integral de la membrana de las células eucariotas que intercambia Na^+ extracelular por H^+ citosólico por lo cual no solo contribuye a la regulación del pH y volumen intracelular sino que representa una importante vía de ingreso de Na^+. La actividad del NHE-1 se vinculó con la hipertrofia cardiaca (HC) a partir de la observación de una clara asociación entre el aumento del intercambio Na^+/H^+ y del Na^+ eritrocitario con el aumento de masa ventricular izquierda en pacientes hipertensos. Posteriormente se estableció la mayor actividad del NHE-1 en el miocardio hipertrófico de ratas hipertensas espontáneas. El desarrollo de inhibidores selectivos del NHE-1 demostró la eficacia de la inhibicion del intercambiador en la prevención y/o reversión del desarrollo de hipertrofia y fibrosis en diferentes modelos experimentales de HC (ratas hipertensas, estimulación ß-adrenérgica, remodelamiento post-infarto). Habitualmente se asocia la mayor actividad del NHE-1 con elevación del pH intracelular y se ha sugerido que esta alcalinización podría ser la señal inicial para el proceso hipertrófico. Sin embargo, en condiciones fisiológicas, los factores estimulantes de crecimiento celular (angiotensina, endotelina, vasopresina) activan, en forma simultánea con el NHE-1, mecanismos acidificantes que logran evitar el aumento del pH pero no el de Na^+ intracelular. Recientemente demostramos que el efecto hipertrofiante de endotelina en cultivos de miocitos cardiacos de ratas recién nacidas esta mediado por el aumento de Na^+ intracelular que activando el modo inverso del intercambiador Na^+/Ca^{+2} eleva el Ca^{+2} intracelular.

SYMP 05-02

Calcineurin inhibition by ZAKI-4β overexpression attenuates hypertrophy but increases diastolic stiffness following pressure overload. Ricardo J. Gelpi. Instituto de Fisiopatología Cardiovascular, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires.

Although inhibition of calcineurin attenuates left ventricular (LV) hypertrophy (H) by many stimuli, including pressure overload, its effects on LV function are not well understood. In order to address this issue, we generated transgenic mice (TG) with cardiac specific overexpression of ZAKI-4β, a homologue of modulatory calcineurin-interacting protein 1 and 2 and a specific inhibitor of calcineurin. The baseline cardiac phenotype of TG was indistinguishable from non-transgenic littermates (NTG). We examined the effects of pressure overload (2 weeks aortic banding) on LVH and systolic and diastolic LV function. Before sacrifice, cardiac dimensions and ejection fraction dimensions were assessed by echo, which allowed the estimation of LVS and LVED stress. Then, LV systolic (S) pressure (P) and its derivative LV end-diastolic (ED) P were measured with Millar catheters. As expected, heart weight / body weight ratio was less, $p<0.05$, after banding in TG (3.4 ± 0.1) than NTG (4.6 ± 0.2). LVSP and LVED diameter were not different after banding in the two groups, but LVEDP was higher, $p<0.05$, in TG (10.3 ± 3.0mmHg) than NTG (4.3 ± 1.1mmHg). LVS stress was similar in TG and NTG, but LVED stress was higher in TG (22.2 ± 6.6 g/cm²) than NTG (7.7 ± 2.0 g/cm²). The LVEDP/LVEDD ratio, a measure of LV stiffness, was increased, $p<0.05$, in TG (2.8 ± 0.8) compared with NTG (1.2 ± 0.3). Thus, as expected, inhibition of calcineurin by ZAKI-4β significantly attenuates the development of LVH by pressure overload. However, the cost for this effect is an increase in LV diastolic wall stress and LV diastolic stiffness.

SYMP 05-03

Hipertrofia miocárdica: Es compensadora? Eduardo M Escudero. Cátedra de Fisiología con Física Biológica. Fac de Ciencias Médicas.Universidad Nacional de La Plata. Argentina

La hipertrofia miocárdica es considerada un mecanismo compensador de adaptación del corazón ante diferentes sobrecargas. Estas sobrecargas generan a través de las señales intracelulares utilizadas distintas respuestas que se asocian o no con compromiso funcional del miocardio. El estudio de las características estructurales y funcionales del ventrículo izquierdo en atletas, en embarazadas o en ratas normotensas sometidas a un entrenamiento, muestran la presencia de hipertrofia en respuesta a esos estímulos sin compromiso de la función ventricular, señalando la presencia de una respuesta fisiológico o compensadora. Sin embargo cuando se analizan las características del ventrículo izquierdo en ratas espontáneamente hipertensas, en ratas normotensas a las que se les reduce el diámetro de la aorta torácica, a las que se les administra isoproterenol o a las que se les provoca un infarto agudo de miocardio se encuentra un aumento de colágeno en el intersticio, así como disfunción diastólica y sistólica temprana acompañando al desarrollo de hipertrofia, hallazgos similares a los encontrados en pacientes con hipertensión arterial, miocardiopatía hipertrófica o estenosis aórtica. Cuando la hipertrofia se acompaña de disfunción ventricular, pudiendo ser el inicio de un proceso que conduce a la insuficiencia cardíaca, se pone en duda si ese mecanismo es realmente una adecuada adaptación a la sobrecarga. En un verdadero desafío a lo conocido sería correcto especular con con la necesidad de estimular el desarrollo de hipertrofia compensadora (fisiológica) en determinadas situaciones de sobrecarga o llegar a modificar la res-

puesta no compensadora (patológica) en compensadora (fisiológica).

SYMP 05-04

Regulation of the Renal Microcirculation: "a riddle wrapped in a mystery inside an enigma"*. Oscar A. Carretero, M.D. Hypertension and Vascular Research Division, Henry Ford Hospital, Detroit, Mi, USA.

The kidney plays an important role in the long-term regulation of blood pressure. In hypertension, regardless of its cause, renal vascular resistance increases, shifting the pressure natriuresis set point to higher pressure. The renal afferent arteriole (Af-Art) accounts for most of renal vascular resistance; it controls GFR and peritubular pressure, and thus renal function. In addition, Af-Art resistance controls intraglomerular pressure, which is important not only for filtration pressure but also the development of glomerulosclerosis in hypertension and diabetes. Af-Art resistance is regulated by mechanism similar to those that control other arterioles. In addition, the Af-Art resistance is controlled by tubuloglomerular feedback (TGF). TGF operates *via* the macula densa: when concentrations of sodium and chloride in the macula densa are increased, a signal is transmitted (ATP-Adenosine) that constricts the Af-Art. In humans and other mammals, there is a transitional region of the nephron between the distal convoluted tubule and the cortical collecting duct, called the connecting tubule (CNT). In the outer renal cortex, CNT returns to the glomerular hilus and make contact with the Af-Art. This morphology is compatible with cross-talk between the CNT and Af-Art. To test this hypothesis, we simultaneously perfused a microdissected Af-Art and adherent CNT. Increasing NaCl in the CNT markedly dilated the preconstricted Af-Art. We called this cross-talk "connecting tubule glomerular feedback" (CTGF) to differentiate it from TGF. Entry of Na^+ into the CNT is required to induce CTGF since increasing choline chloride from 10 to 80 mM did not dilate the Af-Art. The epithelial Na channel (ENaC) mediates CTGF, since inhibition of the ENaC with amiloride completely blocked the CTGF response while hydrochlorothiazide, a Na/Cl cotransporter inhibitor, did not. Nitric oxide (NO) released by the CNT does not mediate CTGF since inhibition of nitric oxide synthases in the CNT, it potentiated CTGF. The cross-talk between CNT and Af-Art is a novel mechanism that may contribute to the regulation of renal blood flow and GFR and could also mediate the renal vasodilatation observed during high salt intake. In pathological situations, an increase in the CTGF response could cause Af-Art dilation and a rise in the glomerular capillary pressure and participate in the development of glomerulosclerosis. On the other hand, in hypertension, a decrease in CTGF response could cause Af-Art constriction, shifting the pressure natriuresis set point to higher pressure. *W. Churchill 1939.

SYMP 06-01

Effects of physical and psychological stressors on behavior, neurochemistry and innate immunity. João Palermo-Neto. Appliied Pharmacology and Toxocology Lab., Department of Pathlogy, School of Veterinary Medicine, University of São Paulo.

The present study analyzed the effects of physical and psychological stressors on behavior, immune function, hypothalamic/cortical noradrenaline levels and turnover (NE) and serum corticosterone in mice. Adult mice were submitted once daily, for 6 days to one of the following conditions: escapable (ES) or inescapable (IS) footshocks (0.2 mA) signaled by a tone cue or to psychological stressor (PS) generated through the use of a communication box. Results showed that IS and PS: (1) decreased locomotor activity observed in an open-field; (2) decreeased number of entries into the open arms and decreased time spent in the exploration of the open arms of the plus maze; (3) increased macrophage spreading and phagocytosis; (4) increased macrophage H_2O_2 release; and (5) increased growth of the ascitic form of Ehrlich tumor. Behavioral and immunological changes were not observed after ES; this absence of effects, however, might not be attributed solely to footshock controllability since mice of grops ES and IS differed with respect to the psychological setting used and the amount of shock they received. An increase of serum corticosterone concentration and a decease in cortical/hypothalamic NE levels and turnover were also observed in the stressed mice of all groups; these changes were both higher in animals of group IS. These data showed that IS and PS but not ES alter, at the same time and in mice, stress levels, NE and macrophage activities and Ehrlich tumor growth. Together, they suggest that other factors besides NE and HPA axis activatins might be responsible for the neuroimmune consequences presently being reported after IS, ES and PS.

SYMP 06-02

Abstract not available.

SYMP 06-03

Immune Mediators: Depression and Heart Disease: a Mechanist Link. Ma-Li Wong, Valeria Rettori, Philip W. Gold, Samuel M. McCann, Julio Licinio, University of Miami - Miller School of Medicine, Department of Psychiatry and Behavioral Sciences.

The pathophysiology of sepsis and systemic inflammation involves important participation of the central nervous system (CNS) as can be evidenced by alterations of the sleep cycle, temperature regulation, neuroendocrine function and behavior. We will review findings resulted from our CNS and peripheral studies during systemic inflammatory response syndrome. Our results demonstrated that there is no iNOS gene expression in the rat brain at baseline conditions and that early inflammatory response is accompanied by a flagrant production of iNOS messenger RNA in different cerebral structures. Analyses of brain parenchyma and cerebrospinal fluid (CSF) demonstrated

the presence of NO metabolites. Interleukin (IL) 1ß, IL-1 receptor antagonist (IL-1ra), IL-10, and IL-13 gene expression were also evaluated in the brain as well as the pituitary. In situ hybridization histochemistry showed a marked and generalized activation of IL-1ß throughout the brain, with a particular early onset at the pituitary. Induction levels of IL-1ra and IL-10 were modestly increased while IL-13 was not detected. Parallel studies in the heart tissue were performed and resulted in the description of Endotoxin induced myocarditis (EIM), an entity characterized by iNOS mRNA induction in the left (LV) and right (RV) ventricles during a systemic inflammatory response was demonstrated in our analyses of heart tissue, with the RV showing to be more vulnerable than LV. These findings suggest an important participation of NO in the pathophysiologic mechanisms of inflammatory states, warranting the study of the extent of its involvement in clinical syndromes such as SIRS and sepsis.

SYMP 06-04

Neuroendocrine-Adipose-Immune Interactions: An integrative sight. Eduardo Spinedi, Andrés Givambattista. Neuroendocrine Unit, IMBICE (CONICET-CICPBA), La Plata, Argentina.

Interactions between neuroendocrine, adipose and immune functions became, during the last decade, very attractive for a better understanding of integrative processes involved in maintaining organism's homeostasis. It is known that a sex-hormone basis is a regulatory factor for the activity of those systems. For instance hypothalamo-pituitary-adrenal axis and immune responses to an inflammatory noxa are greater in females than in males, and testosterone is able to enhance leptin metabolic clearance rate. Thus clearly indicating a clear sexual dimorphism characterizing either individual function. Additionally, the change in the energetic condition of an individual is recognized as another condition impacting many of these activities. Hypoleptinemia results as a consequence of, among others, fasting or decreased body fat mass. This diminished signal in the circulation allows the adrenal gland to spontaneously secrete more glucocorticoid than as it occurs during homeostasis. Conversely, the postprandial increase in circulating leptin concentrations decreases adrenal glucocorticoid release. Glucocorticoids play anti-inflammatory and immune-suppressor roles, but also directly stimulate adipocyte leptin production. Additionally, leptin is enhanced in the circulation during the acute phase response of inflammation. It has been suggested that this rapid increase in circulating leptin levels is responsible, at least partially, for the anorexigenic characteristic of the acute inflammatory process. But enhanced leptin secretion during inflammation will also impact the immune system. In fact, leptin exerts protective anti-inflammatory effect in models of acute inflammation and during activation of innate immune response. In contrast, leptin stimulates T lymphocyte response, thus having rather a pro-inflammatory role in models of autoimmune diseases. Thus, the interrelationship between signals derived from these systems is a very complex one. More deep investigation is still needed for a better understanding of the mechanisms involved in the integrated response of the organism to an inflammatory noxa.

SYMP 07-01

Abstract not available.

SYMP 07-02

Estrés Oxidativo y Disfunción Olfatoria en la Enfermedad de Alzheimer. R. Guevara-Guzmán, Patricia Severiano* y Selva Rivas-Arancibia. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM, México 04510, DF.*Facultad de Química, UNAM

En trabajos previos en nuestro laboratorio, hemos reportado el efecto del estrés oxidativo sobre el sistema olfatorio de ratas. Los animales eran sometidos a exposiciones repetidas a bajas dosis de ozono, lo cual produce un estado de estrés oxidativo que induce un proceso de neurodegeneración progresiva en hipocampo así como alteraciones en el bulbo olfatorio, similares a las que se presentan en la enfermedad de Alzheimer (EA). La EA es la causa más común de demencia en la población de edad avanzada. A nivel nacional hay pocos datos epidemiológicos de la prevalencia de la EA. Nuestro laboratorio elaboró un cuestionario de familiaridad de olores que se aplicó a la población nacional, 1000 cuestionarios. Se seleccionó una población entre 18 y 94 años de diferentes partes de la República Mexicana. Los resultados mostraron que no había diferencias significativas en la familiaridad de olores, comparando la población juvenil con la de adultos mayores de 60 años. Los olores que la población identifica en mas de 98% son limón, rosas, piña, plátano, cebolla, gasolina, chocolate, canela, durazno y naranja, los cuales coinciden con las pruebas de olores de otros investigadores como Dotty y cols., 1984. Se encontró que de estos olores 10 olores, cuando se aplican a una población con diagnóstico de EA, desde el punto de vista clínico en su etapa temprana, mostraron una disminución en la detección del olor en un 50%. En otra pequeña población de adultos mayores de 60 años, sin deterioro cognoscitivo, cuando la prueba de olores fue aplicada se encontró que el olor de la piña y el limón se había reducido en un 50 la identificación del olor. Consideramos que la prueba de olores puede servir como una prueba diagnóstica temprana para detectar cambios en el umbral olfatorio, antes de que aparezcan alteraciones cognoscitivas. Grant SDEI.PTID.05.5.

SYMP 07-03

Pleiotrophin is expressed in the rat adult striatum and mediates the differentiation of dopaminergic neurons in culture. Raisman-Vozari R. (1), Taravini I. (2), Ferrario J. E. (1), Mourlevat S. (1), Debeir T. (1), Delbe J. (3), Courty J. (3), Ginestet L. (1), Murer G. M. (2), Ruberg M. (1) & Gershanik O. (2) (1) INSERM U679, Paris, France; (2) ININFA-CONICET, Buenos Aires, Argentina; (3) FRE CNRS 2412, Creteil, France.

Parkinson's disease is characterized by a selective loss of the dopaminergic nigrostriatal pathway. Surviving neurons undergo both spontaneous or levodopa induced plastic changes. We have recently reported the finding of an increased expression of Pleiotrophin (PTN) in the striatum of rats with an unilateral 6-OHDA lesion of the nigrostriatal tract chronically treated with levodopa· PTN has a strong influence on neuronal differentiation and proliferation during development, is a secreted protein produced by neurons, glial and neuroepithelial cells, and is highly expressed during early post-natal brain development. PTN enhances neurite outgrowth in cultured neurons and is involved in axonal guidance. We thus sought in this study to identify by immunohistochemistry the different cellular types that contain PTN at the striatal and nigral levels, and to detect the presence of the PTN receptor N-syndecan at the nigral level. Moreover, *in vitro*, we investigated whether PTN affects the differentiation of DA neurons in embryonic mesencephalic cultures. Our results indicate that PTN is selectively localized in two of the major classes of striatal interneurons (cholinergic interneurons and the GABAergic interneurons that express somatostatin/nitric oxide (cholinergic interneurons and the GABAergic interneurons that express somatostatin/nitric oxide synthase). The present work suggests new roles for striatal interneurons in the adult brain. It is tempting to speculate that striatal interneurons can supply a cocktail of neurotrophic and differentiation-promoting substances that can stimulate the remodeling of dopaminergic innervation in physiological and pathological conditions. At the nigral level we were able to show that both PTN and N-syndecan are present in a small number of tyrosine hydroxylase immunoreactive neurons. In vitro, our results showed that PTN can induce the differentiation of dopaminergic neurons. In conjunction, all of our results suggest that PTN would mediate some of the compensatory mechanisms that surviving dopaminergic nigrostriatal neurons undergo in the parkinsonian brain.

SYMP 07-04

Estrés oxidativo y neurodegeneración. Selva Rivas-Arancibia y Mariana Angoa-Perez. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. México

La pérdida del equilibrio de oxido reducción lleva a un estado de estrés oxidativo, el cual está presente en las enfermedades neurodegenerativas; aun no esta claro, si el estado de estrés oxidativo, es la causa o la consecuencia que durante estas enfermedades contribuye ha mantener el proceso de neurodegeneración progresiva. Sin embargo, los cambios en la señalización redox que ocurren durante este estado, causan alteraciones que van desde la oxidación de lípidos y proteínas de membranas celulares hasta la activación de diferentes vías intracelulares, (relacionadas con el sistema inmune y también con muerte celular). Todo esto indica que existe una estrecha relación entre el estado de estrés oxidativo, la oxidación de biomoléculas, la pérdida de control de las funciones de membranas y microtúbulos y las alteraciones del sistema inmune, que mantienen la progresión del daño. En nuestro laboratorio trabajamos con un modelo de estrés oxidativo causado por la exposición de animales a bajas dosis de ozono (0.25 ppm por 4 horas diarias durante 1 o 2 meses). Con este modelo hemos demostrado que la exposición a ozono de animales sanos causa alteraciones que llevan a cambios gliales y muerte neuronal, la cual progresa temporalmente incluso cuando los animales ya no son expuestos a este gas. Esto demuestra que el estrés oxidativo por si mismo, en animales sanos, es capaz de producir neurodegeración progresiva, la cual, una vez que se desencadena continua avanzando aun cuando el estimulo que la desencadeno ya no este presente

SYMP 08-01

Fluid flow from the ciliary body to anterior chamber. Candia, Oscar; Zamudio, Aldo; Gerometta, Rosana; Kong, Chi-wing; Leiva, Jorge Mount Sinai School of Medicine, NY, USA and Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina.

It is assumed that all the aqueous humor (AH) flow into the anterior chamber (AC) of the eye comes from the posterior chamber (PC). Most measurements of AH flow are based on exit flow from the AC, not flow across the pupil. However, it is possible that part of the fluid from the CB capillaries gets to the AC directly, driven by a pressure gradient between the stroma of the CB and the AC. Further, if there is a flow from the CB to the AC, in Cl transporting ciliary body epithelium such as bovine, the [Cl] in the AC will be lower than in the PC and closer to that in the plasma (PL). In the rabbit ciliary epithelium, which mainly transports HCO_3 into the PC, the opposite should occur. To determine possible [Cl]'s differences, 3 protocols were implemented. 1. In live cows, 2 electrodes located at the angle and the anterior pupil simultaneously, detected an average [Cl] 9mM larger at the pupil. 2. Freshly enucleated cow eyes were frozen instantly. AC and PC were separated. [Cl]'s of thawed AC and PC, and PL were respectively 101.8, 120.8 & 106.2 mM. 3. In rabbits, quickly after death, fluids of the AC or PC were aspirated from each contralateral eye. Contrary to the cow, the average [Cl] was larger in the AC than the PC: 106.3 and 101.4 mM respectively. PL [Cl] was 107.9 mM. We conclude that part of the fluid flow into the AC comes directly from that in the CB stroma, thus changing the [Cl] to approximate that of the PL. This interpretation could also explain why inhibition of active transport mechanisms in the ciliary epithelium cannot totally stop AH flow.

SYMP 08-02

Transient receptor potential vanilloid 1 activation in corneal epithelial cells mediated a pro-inflammatory response. Peter Reinach, José Capó-Aponte, Hua Yang, Lab. Biological Sciences, State University of New York, College of Optometry, New York, NY.

Transient receptor potential vanilloid subtype 1 (TRPV1) belongs to a superfamily of ion channels composed of different TRP isoforms. TRPV1 expression has been reported to be involved in mediating responses to pro-inflammatory mediators. Although the expression of TRPV1 has been previously described in corneal neurons, there is no report of TRPV1 expression in the corneal epithelium. We probed for functional TRPV1 receptor expression in the isolated cornea and cultured corneal epithelial cells (CEC) as well as the signaling pathways mediating increases in IL-6 and IL-8 expression. Western Blot analysis and immunocytochemistry identified the expression of TRPV1 in SV40-immortalized human CEC and rabbit CEC, as well as primary rabbit CEC. Immunohistology detected TRPV1 protein expression in the intact mouse corneal epithelium and cultured stratified mouse corneal epithelial grown on an amniotic membrane. FACS analysis revealed surface expression of TRPV1 expression in human CEC. The TRPV1 agonist CAP induced transient increases in $[Ca^{2+}]_i$. This effect was inhibited by the competitive vanilloid receptor antagonist, capsazepine, and a Ca^{2+}-free solution. CAP induced large increases in the IL-6 and IL-8 (i.e., 8-fold) levels. CAP stimulation of IL-8 was markedly suppressed by capsazepine preincubation. Similar inhibition of CAP-induced increases in IL-6 and IL-8 levels was induced by preincubation with either the p38MAPK inhibitor SB203580, the JNK inhibitor SP600125, or exposure to a Ca^{2+}-free medium. To our knowledge, we show here for the first time that there is functional TRPV1 surface membrane expression in the corneal epithelium devoid of sensory innervation. Their activation could contribute in-vivo to pro-inflammatory responses mounted to suppress bacterial infiltration. Rises in these mediator levels are dependent on TRPV1–induced transient rises in intracellular $[Ca^{2+}]_i$ resulting in p38 and JNK MAPK limb activation.

SYMP 08-03

Secretory phospholipase A2 IIA in conjunctival Goblet cells J. Mario Wolosin and Helen Turner. Department of Ophthalmology, Mount Sinai School of Medicine, New York, NY, USA.

Secretory PLA2 performs a wide range of biological functions, including important roles as a powerful proinflammatory mediator and antimicrobial agent. The IIA isoform (sPLA2-IIA) is the strongest anti-microbial protein in tears. In a comparative corneal/conjunctival microarray analysis we identified sPLA2-IIA as the major component of the human conjunctival mRNA. Accordingly, we have now examined the cellular protein distribution and enzymatic activity to establish where the enzyme is produced and stored within the conjunctival epithelium. Cryopreserved and formalin fixed conjunctival tissue sections were probed with a mouse monoclonal antibody to human sPLA2-IIA and visualized with an Alexa 488-conjugated secondary antibody using epifluorescent and confocal microscopy. A fluorimetric assay was used to detect enzymatic activity in conjunctival epithelial lysates and conjunctival secretions. Consistent with the high levels of RNA message found in the microarray study, immunohistochemistry revealed the presence of sPLA2-IIA protein in small vesicles in the Goblet cell, a large intercalated cell accounting for about 10 % of the cells of the conjunctival epithelium that, until now, similarly to all other mucinous cells of the body, has been thought to be involved exclusively in large mucin granule synthesis and secretion. In immature, sub-surface Goblet cells, the vesicles were dramatically concentrated in full proximity to the basolateral cell membrane. In mature Goblet cells undergoing degranulation at the epithelial surface of the stratified epithelium, numerous vesicle profiles were observed migrating through the cell body towards the secretory pit, markedly reducing the vesicular density at the cell membrane wall. The phospholipase A2 assay produced a sensitive and linear relationship between the rate of reaction and conjunctival enzyme concentration that was comparable with that of purified sPLA2 enzyme isolated from bee venom. In summary, this study identifies for the first time the presence of a vigorous secretory activity for a non mucinuos protein in a mucin secreting cells and suggests that the conjunctiva may be a substantial source of tear sPLA2-IIA vis a vis its assumed lacrimal gland source.

SYMP 08-04

Lens volume change during accommodation. Gerometta, Rosana; Zamudio, Aldo; Porcel, Donato; Candia, Oscar. Mount Sinai School of Medicine and UNNE, Corrientes, Argentina.

It is assumed that the lens volume remains constant during accommodation; requiring the capsule to stretch, as the lens gets flatter and possibly compromising the integrity of the epithelium. Alternatively, the capsule's surface could remain quite constant while the volume decreases, as the lens flattens. This hypothesis was tested on geometrical figures of the human lens and on an in vitro model of the cow's ciliary-zonulae-lens system. Methods: Sagittal profiles of accommodated (ACC) and unaccommodated (UN-A) 20 year-old human lens with 10 D of accommodation were computer generated using parameters obtained from the literature. For the cow, a rubber washer with the ciliary body glued to it, was mechanically and evenly stretched, transmitting the pull on the lens through the zonulae, and then relaxed, as it occurs in vivo. Side photographs were taken and later processed with Photoshop. A formula derived from the horn torus, was used to calculate the volumes in both accommodatives states of the 2-dimensional figures. Results: Clearly, cross sectional area and volume decreases as the lens gets flatter; the latter by about 5-7 %. Conclusions: We showed in a

geometrical model of the human lens and in an in vitro model that simulates natural accommodation, that a movement of fluid out and into the lens occurs during the process. This fluid movement should also take place internally between lens fibers.

	HUMANS LENS			COW LENS		
	ACC	UN-A	%Change	ACC	UN-A	%Change
Equat.Length(cm)	0.898	0.922	+2.7	1.796	1.839	+2.4
Ant-Post Thick.(cm)	0.422	0.382	-9.5	1.249	1.214	-2.8
CSA (cm 2)	0.136	0.124	-8.8	0.868	0.832	-4.1
Volume (cm 3)	0.155	0.144	-7.1	2.058	1.949	-5.3

SYMP 09-01

Molecular Basis of Pathological Cardiac Natriuretic Peptide Synthesis and Secretion. Adolfo J. de Bold and Monica Forero McGrath, Cardiovascular Endocrinology Laboratory, University of Ottawa Heart Institute, Ottawa, Ontario Canada.

Atrial cardiocytes in the heart of mammals produce in a regulated manner the polypeptide hormones atrial natriuretic factor (ANF, ANP) and brain natriuretic peptide (BNP). The biological actions of ANF and BNP are similar; they include the modulation of systems that tend to increase extracellular fluid volume and blood pressure such as the renin-angiotensin system and the sympathetic nervous system. Additionally, both hormones have potent growth-regulating properties. ANF and BNP signal by activating membrane-bound guanylyl cyclase receptors leading to an increase in intracellular cGMP and thus affecting the activity of cGMP-regulated enzymes and ion channels. Under chronic hemodynamic overload, cardiac ANF and BNP synthesis and secretion are increased. This increase is viewed as a cardioprotective mechanism given the beneficial effects of ANF and BNP on cardiac preload, afterload and cardiovascular growth. Some basic facts regarding the synthesis and secretion of ANF and BNP and their peripheral effects remain to be clarified. Nevertheless, at the clinical level the elevation of circulating ANF and BNP in heart failure or following acute coronary syndromes has been shown to have diagnostic and prognostic implications. Moreover, ANF and BNP themselves hold promise as therapeutic agents in the treatment of heart failure. Additional pharmaceutical applications may be gleaned from current preclinical and clinical studies showing beneficial effects of ANF or BNP in the treatment of hypertension, bronchospasm and in tissue remodeling following acute myocardial infarction.

SYMP 09-02

Implications of Cardiac Natriuretic Peptides in Cardiovascular Medicine. Haissam Haddad. Associate Professor of Medicine. Director of the Heart Failure and Transplantation Clinics. University of Ottawa Heart Institute, Ottawa, Ontario, Canada.

Acute Heart failure is a clinical syndrome, with reduced cardiac output, tissue hypoperfusion, increase in the pulmonary capillary wedge pressure, and tissue congestion. The underlying mechanism may be cardiac or extra-cardiac, and may be transient and reversible with resolution of the acute syndrome or may induce permanent damage leading to chronic heart failure. Management of Acute heart failure needs some organization. Best result achieved if patients are treated promptly by expert staff in areas reserved for heart failure patients, emergency room, acute coronary care, or surgical or medical intensive care. Nesiritide is a recombinant human brain peptide or BNP which is identical to the endogenous hormone produced by ventricle in response to increase wall stress, hypertrophy, and volume overload. Nesiritide has venous, arterial, and coronary vasodilatory properties that reduce preload and afterload, and increase cardiac output without direct inotropic effects. Systemic infusion of nesiritide in patients with congestive heart failure has beneficial haemodynamic actions, result in an enhanced sodium excretion and suppression of the rennin-angiotensin - aldosterone and sympathetic nervous system. The drug has been shown to be efficacious in improving subjective dyspnea score as well as inducing significant vasodilation. Clinical experiences with Nesiritide are still limited. Nesiritide may cause hypotension and some patients are non-responders. Use of Nesiritide has not translated yet into improvement in clinical outcome.

SYMP 09-03

Cardiac Natriuretic Peptides as Biomarkers in Acute Coronary Syndromes. Hugo Ramos. Catedra de Medicina II, Universidad Nacional de Cordoba, Departamento de Clinica Medica, Hospital de Urgencias, Cordoba, Argentina. Email: belenr@arnet.com.ar.

The natriuretic peptides ANF, BNP and N-terminal portion of BNP prohormone (NT-proBNP), are being investigated in different clinical settings of Acute Coronary Syndromes (ACS). *In the Chest Pain Unit*: BNP and NT-proBNP are independent predictors of death, infarction or myocardial revascularization in pacientes with acute chest pain, even when the ECG, CK-MB and Troponin levels are non-diagnostic. *Non-ST-elevation segment ACS:* In patients with unstable angina and non-ST-elevation infarction, NT-proBNP levels >545 pmol/L have RR of 3 to 5.6 (CI 95%, 1.4 to 7 and 2..2 to 14.5 respectively) of long-term death, independent of clinical evidence for heart failure. Similar results with NT-proANP were found. Elevation of NT-proBNP plasma levels is reversible in acute ischemia with no prior damage to left ventricular function. The levels of NT-proBNP are directly related to the extent of coronary artery disease (CAD) with complex and acute lesions (ulcerated plaque, thrombus or TIMI flow < 2), in patients with normal left ventricular function. The elevation of NT-proBNP levels parallels the extent of CAD. *ST-segment elevation ACS*: Acute elevations of ANF and BNP plasma levels were demonstrated with serial measurements in AMI.

However, ANF levels diminished rapidly while BNP levels remained elevated for weeks or months, suggesting an acute (ANF) and chronic response (BNP). In the first hours of an AMI, BNP plasma levels >80 pg/mL or NT-proBNP plasma levels >545 pmol/L are strong predictors of death and heart failure, independent of age and left ventricular ejection fraction. *Conclusions*: ANF, BNP and NT-proBNP may have an important role in the diagnosis and prognosis of ACS. Limited human data, paralleling findings in animal studies, suggest that ANF and BNP have different responses to hemodynamic challenges in ACS. To elucidate the specific role of ANF and BNP in ACS warrants further investigation.

SYMP 09-04

Natriuretic Peptides and Their Analogues as Therapeutic Agents. Mercedes L. Kuroski de Bold[1], Elizabeth M. Denholm[2], Vanja Vukic[1], Ali Shoushtarian[1], Karen Thibaudeau[2], Roger Leger[2], Dominique Bridon[2], Adolfo J de Bold[1], [1]University of Ottawa Heart Institute,., Ottawa, ON, [2] CONJUCHEM Inc., Montreal. PQ H2X 3Y8, Canada.

Treatment of arterial hypertension, acute myocardial infarction and chronic congestive heart failure involves the administration of pharmacological agents (diuretics, angiotensin converting enzyme inhibitors, etc.) they have side-effects and many are extremely expensive. ANF possesses all the pharmacological properties of the various therapeutic agents to treat these diseases. Its administration has been proven effective in both direct effects on the renin-angiotensin-aldosterone system and on the sympathetic nervous system while simultaneously preventing rebound phenomena. The peptide nature of ANF prevents its administration by ingestion and even when injected, ANF has a very short (~2 min) half-life in blood due to its rapid clearance. The need for continuous intravenous (iv) infusion limits its use to a hospital setting. We have tested the effects of a long acting ANF analogue on BP, plasma ANF, BNP and cGMP in the SHR and WKY rats. Animals were injected iv or sc with CJC-1382 (an ANF analogue) or CJC1380 (ANF). The ANF analogue decreased BP, ANF mRNA levels and increased plasma cGMP a in a fashion similar to native ANF after iv administration in both strains. Plasma ANF and urinary cGMP increased, dose-dependently, at 24, 48 and 72 h following a single sc injection in both SHR and WKY rats. The observed effects of CJC-1382 and native ANF suggest that long-acting ANF derivatives might offer a new therapeutic modality for the treatment of hypertension and chronic heart failure

SYMP 10-01

Glomérulos en desarrollo: el ménage á trois del bulbo olfativo. Jorge García-Marqués, Albert Blanchart & Laura López-Mascaraque. Dpto. Neurobiología del Desarrollo, Instituto Cajal-CSIC, Madrid, España.

La integración de la información sensorial química representa un aspecto fundamental para la supervivencia de la mayoría de animales. En mamíferos este proceso se inicia en unas estructuras globulares presentes en el bulbo olfativo denominadas glomérulos, las cuales engloban tanto a los axones de las células sensoriales olfativas del epitelio olfativo como a las dendritas de las neuronas de proyección del bulbo olfativo (células mitrales y empenachadas), además de distintos tipos de interneuronas y glia. La formación de los glomérulos comienza con el establecimiento de sinápsis que tiene lugar durante los días embrionarios 14 a 16 en ratón, estando íntimamente relacionado con la expresión diferencial de distintos factores moleculares entre los que destacan Semaforinas y Neuropilina. Estas estructuras no se completan sin la llegada de interneuronas periglomerulares por la ruta de migración rostral proceso que ocurre tanto en etapas de desarrollo como en edad adulta. El estudio de este aporte celular en etapa postnatal desvela cómo la astroglia juega un papel muy importante en el proceso de migración celular a través de la ruta de migración rostral originada en la zona subventricular del telencefalo. Estos procesos determinarán el alto grado de plasticidad del bulbo olfativo y su capacidad de adaptación a la llegada de nueva información. Este trabajo ha sido financiado con el Proyecto BFI2003-00139 del Ministerio de Educación y Ciencia español.

SYMP 10-02

Noradrenergic modulation of neuronal circuits in the mammalian olfactory bulb. Ricardo C. Araneda. Department of Biology, University of Maryland, USA.

The olfactory bulb receives an extensive noradrenergic projection and the modulatory action of this system has been implicated in the formation of olfactory memory. A possible target for this action is the dendrodendritic reciprocal synapses between the inhibitory interneurons, the granule cells (GC), and the output neurons, the mitral and tufted cells (M/TCs). For example, in the accessory olfactory bulb (AOB) modulation of dendrodendritic synapses by noradrenergic afferent fibers has been postulated to play a key role in the formation of female's memory of the stud during mating in mice. However, the exact mechanisms by which noradrenaline (NA) participates in olfactory memory formation have not been elucidated. Current models propose that NA inhibits the release of GABA from GC, thus increasing the excitability of M/TCs. However, these models mostly rely on the reported excitatory actions of NA in the main olfactory bulb (MOB). Surprisingly, we find that NA decreases the firing frequency of M/TCs in cell-attached patch and in current-clamp recordings. This effect is due to an increase in the GABA inhibitory input to M/TCs. Application of NA produced a ~20-fold increase in the frequency of GABA induced miniature inhibitory postsynaptic currents (mIPSCs) without changing their amplitude. A pharmacological analysis indicated that the increase in mIPSCs frequency results from activation of α_1-adrenergic receptors. In addition

to increasing the mIPSC frequency, NA also potentiated GABA inhibitory currents induced by direct stimulation of GC. Altogether, these results indicate that NA produces inhibition of M/TCs in the AOB and this effect is due to an increase in GABAergic transmission at dendrodendritic synapses. Thus, the role of the noradrenergic activity in the AOB may be opposite than previously suggested; we find that the overall effect of NA in the AOB is inhibition of M/TCs. Moreover, these results suggest that NA may have a different mechanism of action in the AOB compared with the MOB.

SYMP 10-03

Transduction of biologically relevant odors by the main olfactory system. Weihong Lin[1], Robert Margolskee[2], Gerald Donnert[3], Stefan Hell[3], and Diego Restrepo[1]. [1]Department of Cell and Developmental Biology, Neuroscience Program and Rocky Mountain Taste and Smell Center, University of Colorado Health Sciences Center, Aurora, CO 80045, [2]Department of Neuroscience, Mount Sinai School of Medicine, New York, New York 10029 and [3]Department of Biophotonics, Max Planck Institute for Biophysical Chemistry, 37070, Göttingen, Germany

Some olfactory sensory neurons (OSNs) in the main olfactory epithelium (MOE) respond to pheromones, but transduction for these stimuli in the MOE is poorly understood. Olfactory transduction involves adenosine 3',5' cyclic monophosphate (cAMP) synthesis and subsequent opening of cyclic nucleotide-gated (CNG) channels. We find co-expression of CNG channels and the transient receptor potential channel M5 (TRPM5) in OSNs projecting to the ventral olfactory bulb. A subset of the glomeruli innervated by TRPM5-expressing OSNs responds to pheromones and urine. In addition, the fractional contribution of the cAMP pathway to pheromone responses is increased by genetic elimination of TRPM5. Thus TRPM5 participates in signal transduction of biologically relevant odors in the MOE.

SYMP 10-04

Molecular events occuring in olfactory cilia during the olfactory response. Juan Bacigalupo, Ricardo Delgado, Karen Castillo, Verónica Saavedra, Carolina González, Depto de Biología, Fac Ciencias, Univ de Chile, Santiago, Chile.

Odor transduction takes place in the chemosensory cilia of olfactory receptor neurons (ORNs). Odorants bind to receptors proteins, triggering a cyclic-AMP cascade that leads to the activation of non-selective cationic cyclic nucleotide gated (CNG) channels. Ca^{2+} entering the cilia through such channels subsequently activate Ca^{2+}-dependent Cl^- (Cl_{Ca}) channels. Both channels contribute to the excitatory odor response. Neither the CNG nor the Cl^- channel had been previously recorded at the unitary level directly from the native ciliary membrane. We succeeded on recording both channel types in excised ciliary membrane patches. In divalent-free conditions the CNG channel exhibited a conductance of ~38 pS and much longer open times than in the presence of divalents, in agreement with previous reports. However, the single-channel recordings revealed that the ciliary Cl_{Ca} channel has two unitary conductances, of approximately 11 and 22 pS, considerably higher than previous estimates by noise analysis (sub-pS values), although its $K_{0.5}$ for Ca^{2+} agrees with published macroscopic data. Estimates of the number of Cl_{Ca} channels per ORN suggest that this channel accounts for the whole Cl^- transduction current. A third transduction conductance of the ciliary is K^+ selective and Ca^{2+} activated (K_{Ca}), thought to be responsible for inhibitory odor responses. Four classes of K_{Ca} channels (conductances between 14 and 210 pS) were identified on the ciliary membrane by patch clamp. The removal of Ca^{2+} that enters during the odor response has been though to be performed by a Na/Ca exchanger (CNX). We found that the cilia are also enriched in Ca^{2+}-ATPase, as detected by immunochemistry and flux studies. We hypothesize that both transporters complement each other in the crucial task of removing of the excess of Ca^{2+} from the cilia. A model of odor transduction including the molecules mentioned herein will be discussed. Supported by Anillo de Ciencia y Tecnología Programa Bicentenario CONICYT ACT45.

SYMP 11-01

Arginine-Vasopressin modulates intracellular pH via V1 and V2 receptors in renal collecting duct cells. Claudia Capurro, Valeria Rivarola y Paula Ford. Lab. Biomembranas, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

Arginine vasopressin (AVP) has been proposed to be involved in the modulation of acid-base transporters; however, the nature of the mechanism underlying AVP action on intracellular pH (pH_i) in the cortical collecting duct (CCD) is not yet defined clearly. The aim of the present study was to elucidate the proteins implicated in AVP modulation of pH_i, as well as the receptors involved in these responses in a rat cortical collecting duct cell line ($RCCD_1$) that has previously been shown to be a good model of CCD cells. Intracellular pH (pH_i) was spectrofluorometrically studied, by the fluorescent dye BCECF, in cell monolayers grown on permeable filters, either in basal conditions or after stimulation by basolateral 10^{-8} M AVP. Specific V1- or V2-receptor antagonists were also used. Our results showed that AVP, via V2-receptor, induced a biphasic response: a rapid alkalinization followed by an acidification. The initial alkalinization was completely abolished by low doses of HOE-694, a highly specific inhibitor of the Na^+/H^+ exchanger, demonstrating an activation of basolateral NHE-1 isoform of this transporter. The secondary acidification was completely blocked by glibenclamide indicating the participation of CFTR. Both responses were dependent on extracellular Ca^{2+}. On the other hand, AVP stimulation of V1-receptor resulted in an acidification due to an increase in Cl^-/HCO_3^- exchange activity dependent on intra and extracellular Ca^{2+}. We conclude

that in CCD cells AVP selectively activates, via a complex of V1 and V2 receptor-mediated actions, three proteins involved in ions transport and/or in pH_i regulation.

SYMP 11-02

Estudos sobre a Na^+-ATPase em ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Aníbal Gil Lopes, Celso Caruso-Neves, Eugênio Pacelle Queiróz Madeira. Lab. de Fisiologia Renal, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil.

Foram comparadas as atividades da (Na^++K^+)ATPase e da Na^+-ATPase em homogeneizados de córtex renal de ratos espontaneamente hipertensos (SHR) e seus controles com 3 semanas de idade (fase pré-hipertensiva), 8 semanas (fase em que a hipertensão se instala) e 16 semanas (adultos jovens com hipertensão arterial estabelecida). Foi verificado que tanto nos animais SHR quanto nos controles a atividade da (Na^++K^+)ATPase foi maior ($p<0,001$) somente nos SHR de 8 semanas ($p<0,01$), não havendo diferença entre os animais com 3 ou 16 semanas. A atividade da Na^+-ATPase nos ratos SHR aumentou da 3ª para a 8ª semana ($p<0,001$), mantendo-se constante a partir daí. Por outro lado, nos animais controle essa atividade não variou com a idade. Quanto às características cinéticas da Na^+-ATPase foi verificado que sua afinidade ao Na^+ está aumentada nos SHR em relação aos seus controles em todas as idades estudadas. A velocidade máxima é significantemente maior ($p<0,05$) nos SHR adultos (16 semanas) em relação a seus controles. Estes dados mostram a existência de padrões diferentes entre os animais controle e SHR tanto da atividade da Na^+-ATPase como dos parâmetros cinéticos e são forte indício de que essa enzima deva desempenhar papel relevante na gênese e/ou na manutenção da hipertensão arterial. Também foi verificado que angiotensina II estimula a atividade da Na^+-ATPase nos ratos controle via receptor AT1 e inibe, em condições semelhantes, via receptor AT2 e proteína G, a atividade desta enzima em animais SHR. Por outro lado foi verificada uma distribuição diferencial de receptores AT_1 e AT_2 de acordo com a idade e com o nível de pressão arterial dos animais. Estes achados corroboram a hipótese de que a Na^+-ATPase desempenhe papel importante na regulação fina da massa corpórea de sódio e volume extracelular.

SYMP 11-03

Modulation of proton secretion in intercalated cells by intracellular Ca^{2+} and CaSR (calcium sensing receptor). Ricardo Fernandez[2]; Gerhard Giebisch[1]; John Geibel[1]. [1]School of Medicine, Yale University, USA; [2]Physiology-UFPR, Curitiba, Brasil.

Recently, the CaSR has been demonstrated to be present in the kidney, both in the apical membrane of the proximal tubule and in apical and basolateral surface of intercalated cells in the CCD. The collecting duct plays an important role in urinary acidification by proton extrusion via an H^+-ATPase localized on the apical membrane of intercalated cells. At present, no studies have examined a direct relationship between $[Ca^{2+}]_i$ and proton extrusion through the plasma membrane in intercalated cells. We investigated the effect of changes in $[Ca^{2+}]_i$ or modulating the CaSR (either increasing $[Ca^{2+}]_e$ or directly stimulating the receptor using Gd^{3+}) on Na^+ independent proton extrusion in intercalated cells of isolated CCD fragments from mouse kidney. Intracellular pH (pHi) and changes in $[Ca^{2+}]_i$ in the tubules were determined using fluorescent probes. $[Ca^{2+}]_i$ was changed by superfusion of tubules with different concentrations of Ca^{2+} and 2μM Ionomycin. pH_i recovery rates were suppressed in 100nM and 300nM, and comparable to control values at 500nM and 1000nM. Concanamycin (10^{-8}M) prevented these changes. Tubules exposed to either 50μM Colchicine, or 50 μM Bapta-AM failed to elicited $[Ca^{2+}]_i$ dependent proton extrusion. Removal of extracellular Na^+ resulted in a sustained rise of cytosolic ionized calcium. This increase results from the combination of Ca^{2+} release from intracellular stores (an effect blocked by 100nM Thapsigargin), and an influx from extracellular medium (decreased by low extracellular Ca^{2+} or 1mM $NiCl_2$). When $[Ca^{2+}]_e$ was increased from 100nM to 1mM, in the continuous absence of Na^+, dpHi/dt increased significantly. Exposure to 200μM Gd^{3+} enhanced also Na^+ independent proton extrusion. We conclude from the present study that: i. removal of extracellular Na^+ from mouse CCD results in H^+-ATPase activation through a Ca^{2+} -dependent process, which leads to release of Ca^{2+} from stores followed by Ca^{2+} activated Ca^{2+} entry; and ii. stimulating CaSR in intercalated cells result in enhanced proton secretion by both H^+ ATPase and Na^+/H^+ exchange.

SYMP 11-04

Insulin restores D-glucose–reduced adenosine transport by increasing equilibrative nucleoside transporters 2 in human foetal endothelium. Luis Sobrevia, Gonzalo Muñoz, Luis Cea, Carlos Puebla, José Luis Vega, Paola Casanello. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) and Perinatology Research Laboratory (PRL), Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, PO Box 114-D, Santiago, Chile.

Gestational diabetes and high extracellular D-glucose reduce adenosine uptake in human umbilical vein endothelium (HUVEC). Overall adenosine transport is mediated by the human equilibrative nucleoside transporters 1 (hENT1) and hENT2 in this cell type. Insulin has been shown to modulate ENTs in T lymphocytes, however there are no reports on the effect of this hormone on nucleoside uptake and the potential beneficial effect under pathological conditions. We studied the effect of insulin on adenosine transport in HUVEC monolayers exposed to elevated D-glucose. Insulin (0.1 nM, 8 h) and high D-glucose (25 mM, 24 h) reduced hENT1-

mediated adenosine transport and increased nitric oxide (NO) synthesis. D-Glucose did not alter, but insulin increased hENT2-mediated adenosine transport, and hENT2 expression, by a mechanism that was NO-independent. In HUVEC exposed to elevated D-glucose, insulin restored the reduced hENT2-mediated transport, and the mRNA and protein levels of hENT2. This effect of insulin was paralleled by increased overall transport of adenosine. Thus, insulin recovers overall adenosine transport by restoring adenosine transport via hENT2 due to higher hENT2 expression and activity in HUVEC under hyperglycemia. Support: FONDECYT 1030781/1030607.

SYMP 12-01

The adrenal as a new host-pathogen interface. Dr Stefan Bornstein, University Clinic, Dresden, Germany

There is a well established immune–adrenal crosstalk mediated by cytokines. Recent evidence however suggests a direct communication between the adrenal stress system and bacterial and viral toxins, mediated by Toll-like receptors (TLR). Our group was able to show for the first time TLR-2, -4 and -9 expression in mice adrenocortical cells as well as in the human adrenocortical cell line (NCI-H295R) on mRNA and protein level, by RT-PCR. Functionally, TLR-2 is mainly involved in the recognition of Gram-positive bacteria, while TLR-4 has been implicated in LPS signalling, innate immunity and inflammation. Furthermore, a direct effect of bacterial DNA on the adrenal gland, mediated through TLR-9, could actually been demonstrated by us. The close functional interplay between the adrenal and immune system could further be revealed by our investigations on TLR-2, -4 and -9 knockout mice. These mice had an impaired stress response following inflammatory stress, induced by bacterial cell wall compounds and DNA, respectively, a defect to be associated with a decrease in systemic and intraadrenal cytokine expression and release. In summary, the discovery of TLR expression in the endocrine system and especially lessons taken from TLR deficient mice, revealed the importance of these receptors in our understanding of the immune-endocrine crosstalk. TLR-2, -4 and -9 thus seem to be key players in the immune endocrine stress system, especially during inflammation.

SYMP 12-02

Abstract not available.

SYMP 12-03

Interacciones entre el sistema immune,el sistema nervioso simpático y vias metabólicas H.O.Besedovky y A. del Rey. Instituto de fisiología. Departamento de Immnofisiología de la Universidad de Marburg. Alemania

Las células del sistema inmunológico (SI) expresan receptores para hormonas, neurotransmisores y neuropéptidos y a través de ellos estos agentes pueden afectar distintas etapas de respuestas inmunes. En sentido opuesto ciertos mediadores producidos por el SI, como por ejemplo las citoquinas pro-inflamatorias, pueden afectar diversos mecanismos endocrinos y autonómicos, efectos que se integran a nivel del sistema nervioso central. Ese intercambio recíproco de información resulta en circuitos de interacciones immuno-neuro-endocrinas que operan tanto en condiciones de salud o enfermedad. Ejemplos basados en circuitos regulatorios que conectan al SI con el sistema nervioso simpático (SNS) y con vías metabólicas se utilizar□n para ilustrar ese aspecto. Los componentes del circuito que integra al SI con el SNS así como su relevancia en inmunorregulacion van a ser discutido.Como ejemplo se darán estudios que demuestran que hay cambios en la actividad simpática en órganos linfoides durante la respuesta inmune al superantógeno bacteriano SEB y que cuando se interfieren dichos cambios se afecta la fase de proliferaron y anergia de dicha repuesta. Otro ejemplo de las interacciones entre el sistema inmune y el SNS que se discutirá es su relevancia para el desarrollo y curso de la enfermedad autimune/limfoproliferativa que desarrollan los ratones lpr/lpr. En ese modelo se observan cambios bifásicos en la actividad simpático que terminan en una perdida de las fibras nerviosas noradrenérgicas en órganos linfoide en coincidencia con la detección clínica de la patología. Si esas pérdida de la inervación se anticipa por medio de una simpatectomía química se observa un aumento en los niveles de distintas inmunoglobulinas y se acelera claramente el curso de la enfermedad y su desenlace letal. El efecto de citoquinas pro-inflamatorias, en particular de la IL-1 sobre la homeostasis de la glucosa será descrito.

SYMP 12-04

Interacción funcional y molecular entre hormonas del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal y citoquinas Arzt, E. Lab. Fisiología y Biología Molecular-FCEN-UBA e IFBYNE- CONICET, Argentina.

La interacción funcional de los sistemas neurvioso, endócrino e inmune involucra la participación de vias nerviosas, hormonas y citoquinas. En esta interacción el eje hipotálamo-hipofisario tiene un rol preponderante, no solo por medio de la acción de las hormonas secretadas sino también por la producción local de citoquinas. Estas tienen un rol auto-parácrino muy claramente definido en diferentes glándulas, principalmente en la hipófisis, donde las citoquinas de la familia gp130 (Interleuquina-6-IL-6, IL-11 y otras) y TGF-beta son fundamentales para el control de la secreción hormonal y la proliferación. Diferentes tipos de células hipofisarias (productores de hormonas y de sosten, como las células foliculo estrelladas) expresan receptores para y producen las citoquinas, que están a su vez reguladas por hormonas esteroideas (estrógenos y glucocorticoides-GC). Estas no solo regulan la producción de citoquinas en la hipófisis sino también en las células del sistema inmune, principalmente a nivel transcripcional por medio del cross-talk entre los receptores esteroideos nucleares con factores de transcripción como Tbet, GA-

TA-3, NF□b y AP-1. Las citoquinas sensibilizan también a las células blanco de GC para una acción mas eficaz de los mismos por medio de varios mecanismos moleculares de transactivacion y transrepresion. Las vias de señalizacion utilizadas en cada tejido (ej. MAPK por CRH) resultan fundamentales para la especificiad de las respuestas fisiologicas.

SYMP 13-01

Brain neuro-chemical pathways involved in hydroelectrolyte and cardiovascular balance. Laura Vivas, Ximena Caeiro, Andrea Godino. Laboratorio de Homeostasis hidrosalina. Instituto de Investigación Médica M. y M. Ferreyra, Córdoba, Argentina.

This talk will discuss some recent experimental evidence about the role of the endogenous β-endorphinergic system on blood pressure regulation during dietary sodium overload, employing a β-endorphin-deficient mouse line with gene dosage–dependent variations in brain β-endorphin, expressing either 100%, 50%, or 0% of normal β-endorphin content. Besides, in the talk it will be analysed new data regarding the involvement of the serotonergic and oxytocinergic systems in sodium appetite regulation. In sodium depleted animals consuming sodium salts in order to restore body sodium balance it will be examined the activation of the serotonergic and oxytocinergic neurons, (by means of double immunohistochemical detection) in order to discriminate whether the activation of these neurochemical brain groups it might be considered a consequence of sodium satiation process or may be the result of either orosensory stimulation produced by 2% NaCl, or the postingestive consequences such as, stimulation of gastric, hepatoportal sodium sensors. Supported by CONICET, ANPCyT.

SYMP 13-02

Endohtelins as modulatory neuropeptides of the cardiovascular function and water/sodium homeostasis in the central nervous system. Marcelo S. Vatta, Sandra I. Hope, Guadalupe Perfume, Liliana G. Bianciotti, Sabrina Nabhen. Cátedras de Fisiología (IQUIMEFA-CONICET) y Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina

Endothelins (ETs) is a family of isopeptides (ET-1, ET-2 and ET-3) that is widely distributed in different tissues and cell types of mammals including humans. Their biological effects are mediated through well characterized G-protein coupled receptors named ET_A and ET_B that activate multiple signaling pathways. However different studies support the existence of atipic receptors (ET_{AX} and ET_{BX}) as well as a third receptor subtype named ETC. Although ETs are predominantly synthesized by endothelial cells, the ETs system (mRNA ETs and receptors) has been reported in the central nervous system, particularly in the hypothalamus where the expression of ETs and their receptor is very abundant. The hypothalamus is a relevant diencephalic center where catecholamines play an important role in the regulation of water and sodium homeostasis as well as the cardiovascular function. Furthermore, the presence of ETs has been reported in catecholaminergic neurons. Based of these findings we commenced studies regarding the interaction between ETs and noradrenergic neurotransmission in the hypothalamus in order to determine whether this interaction play a role in the modulation of the hypothalamic response. Our findings show that the interaction of ETs and noradrenergic transmission is involved in the increase of blood pressure when ETs are applied to the brain. Furthermore, recent studies performed in hypertensive animals suggest that ETs play a role in the development and /or maintenance of salt-dependent experimental hypertension.

SIMP-13-03

Cellular Mechanisms and Signals Underlying Coordinated Autonomic and Neuroendocrine Outputs for the Maintenance of Body Fluid and Cardiovascular Homeostasis Javier. E. Stern, University of Cincinnati, Cincinnati OH USA.

Maintenance of body fluid homeostasis involves concerted actions among the endocrine, neuroendocrine and the autonomic nervous systems. The supraoptic (SON) and paraventricular (PVN) hypothalamic nuclei have been identified as key neuronal substrates involved in the control of body fluid homeostatic. For example, during dehydration, both neurosecretory and autonomic neurons in the SON/PVN are activated, resulting in increased VP secretion and sympathoexcitation. The cellular mechanisms and signaling pathways underlying the ability of the SON/PVN to coordinate proper neuroendocrine and autonomic responses are not fully elucidated. In this sense, emerging evidence supports that nitric oxide (NO) is a major signal bridging information within and across functionally segregated SON/PVN neuronal circuits involved in body fluid homeostasis. For example, data from our laboratory indicates that NO inhibits both neurondocrine and autonomic SON/PVN neurons, through activation of local GABAergic interneurons. The precise sources and signals driving NO production within these nuclei remain to be fully characterized. Here I will summarize recent studies from our laboratory, supporting that neuronal, glial and likely vascular NO sources can efficiently modulate neurondocrine and autonomic SON/PVN neuronal activity, affecting in turn neurohumoral output from these nuclei. We propose a working model in which intricate intercellular communication within this neuronal-glial-vascular unit, mediated in part by glutamate, GABA, NO and vasopressin, plays an important role in controlling SON/PVN neuronal function, neuroendocrine and autonomic SON/PVN output, and thus, maintenance of body fluid homeostasis.

SYMP 13-04

Role of nitric oxide pathway on regulation of vasoactive hormone release during endotoxemia. Evelin Capellari Carnio. Laboratório de

Fisiologia da Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil.

Septic shock is a major cause of death following trauma and a persistent problem in surgical patients. It is a challenge to the critical care medicine specialist and carries an unacceptably high mortality rate, despite adequate antibiotic and vasopressor therapy. The prevalent hypothesis regarding its mechanism is that the syndrome is caused by an excessive defensive and inflammatory response. During the acute phase some signaling mechanisms are activated, particularly hormone release, which function to restore the host homeostasis that has been disturbed by the infection. Since the neuroendocrine and immune systems are functionally related, so the exposure to antigens induces a synchronized response, which allows the organism to successfully endure immunology changes. An important characteristic of this communication includes the appearance of proteins released into the circulation by activated immune cells. These proteins, called cytokines can enter the circulation and reach neuroendocrine organs, where they act either themselves or through the release of intermediates such as prostaglandin, catecholamines and nitric oxide. The synthesis of nitric oxide may be induced in brain as a consequence of infection and may alter the function of the hypothalamic-pituitary axis. In this symposium we propose to discuss the physiologic roles of the nitric oxide in central nervous system controlling the regulation of vasopressin and oxytocin during the pathophysiology of sepsis.

SYMP 14-01

Comparison of effects of estradiol (E2) with those of octylmethoxycinnamate (OMC) and 4-methylbenzylidene camphor (4MBC) - 2 filters of UV light - on several uterine, vaginal and bone parameters. D. Seidlová-Wuttke, H. Jarry, J. Christoffel, G. Rimoldi, W. Wuttke. Department of Clinical and Experimental Endocrinology, University of Göttingen, Germany

OMC and 4MBC are 2 absorbers of ultraviolet light which are used in unknown quantities sunscreens, cosmetics and plastic products to protect against UV light-induced damage of the skin or of fragrances or plastic material. From there they were shown to reach surface water and/or by direct contamination or ingestion the human. Under various conditions in mice and rats both substances were shown to be estrogenic. Therefore, we compared in vitro and in vivo the effects of chronic application of these compounds at 2 doses with those of E2, all administered via food. No signs of toxicity were observed under application of 0.6 mg E2, 57.5 or 275 mg of OMC, 57.5 or 250 mg of 4MBC; these amounts were ingested with 21 g of control-food, 17.8 g E2-food, 20.6 g or 22.3 g OMC-food and 23.7 or 22.8 g 4MBC-food. In the uterus, vagina and bone E2 exerted the expected stimulatory effects which were minimally shared by OMC and 4MBC in the uterus and vagina as assessed by histology and determination of a variety of estrogen-regulated genes such as insulin-like growth factor-1, progesterone receptor and estrogen receptor ß. In the bone, OMC had no effect while 4MBC shared the antiosteoporotic effects of E2 as measured by quantitative computer tomography in the metaphysis of the tibia. The mechanism of action of 4MBC, however, appears to be different as E2 reduced serum osteocalcin and the C-terminal breakdown products of collagen-1α1 which were both increased by 4MBC. Taken together, these data indicate a very weak estrogenic effect of OMC and 4MBC in the uterus and in the vagina but not in the bone where 4MBC exerted antiosteoporotic effects by a different mechanism than E2.

SYMP 14-02

Efectos de la exposición perinatal a xenoestrógenos sobre el sistema reproductor. Enrique Luque, Jorgelina Varayoud, Jorge Ramos, Verónica Bosquiazzo, Mónica Muñoz-de-Toro. Lab Endocrinología y Tumores Hormondependientes, Fac Bioq Cs Biol, UNL, Santa Fe, Argentina.

Los primeros días postnatales son críticos para el desarrollo del útero y son considerados de alta sensibilidad a la exposición a estrógenos ambientales. Las consecuencias de una exposición temprana pueden manifestarse durante la vida adulta, cuando el útero sufre importantes adaptaciones para su normal funcionalidad reproductiva. En los días previos a la implantación hay, en el útero, un incremento localizado y hormononalmente controlado de la proliferación del estroma subepitelial y del endotelio vascular. El factor de transcripción Hoxa-10 regula la proliferación del estroma y el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) la del compartimiento vascular. Se evaluó si la exposición neonatal a los xenoestrógenos bisfenol A (BPA) y dietilstilbestrol (DES) afecta la fertilidad y los procesos mencionados. Ratas recibieron, desde el día siguiente al nacimiento (DPN1) hasta DPN7, aceite de maíz (control), DES (0.2 μg/kg), BPA0.05 (0.05 mg/kg) o BPA20 (20 mg/kg). Hembras expuestas a xenoestrógenos fueron: a) OVX en DPN80 o b) sometidas a un test de fertilidad. Las hembras OVX se inyectaron con E_2+Pg y se evaluó en útero: proliferación (incorporación de BrdU) en estroma subepitelial y endotelio, ERα, PR, ARNm de Hoxa-10 y de VEGF. Las hembras expuestas a DES o BPA mostraron menor proliferación del estroma subepitelial y del endotelio vascular asociados a expresión disminuida del ARNm tanto de Hoxa-10 como de VEGF. El test de fertilidad mostró que las hembras expuestas a xenoestrógenos presentaron un menor número de sitios de implantación. Los resultados demuestran que la exposición neonatal a xenoestrógenos disminuye la respuesta proliferativa hormonodependiente de las células del estroma subepitelial y del endotelio uterino, y sugieren que este efecto sería mediado a través del silenciamiento de los genes Hoxa-10 y VEGF. Estas alteraciones podrían explicar la disminución en la fertilidad observada en las hembras adultas.

SYMP 14-03

Effects of Benzophenone-3-octyl-methoxy-cinnamate (OMC) an ultraviolet (UV) filters on the hypothalamic synthesis of LHRH and amino acids neurotransmitters. Jaime A. Moguilevsky, Silvia Carbone,; Berta Szwarcfab; Roxana Reynoso; Gabriela Bollero, Osvaldo Ponzo, Dora Rondina, Pablo Scacchi. Departamento de Fisiología Facultad de Medicina Universidad de Buenos Aires and Facultad de Posgrado Universidad Favaloro.

In this study was to determine the "in vitro" effects of octyl-methoxycinnamate (OMC), an endocrine disruptors with estrogenic activity which is used in human beings in cosmetic as UV filter, on the hypothalamic synthesis of LHRH as well as on the amino acids neurotransmitter system that regulates the hypothalamic hormone. OMC significantly decreased LHRH release in normal male and female rats as well in.. In male rats OMC increases the hypothalamic synthesis of GABA decreasing the production of GLU while in the females the drug decreases the hypothalamic release of the excitatory amino acids ASP and GLU without modifications in the hypothalamic GABA release. On these basis it is proposed that OMC is an endocrine disruptor that modified the normal functionally of the gonadal axis by different sexual central mechanisms.

SYMP 14-04

Efecto de los ptalatos, 4-MBC y el bisfenol-A sobre el desarrollo puberal. Pablo Scacchi, Lab. de Endocrinologia, Depto. de Fisiología, Fac. Medicina, Univ. de Buenos Aires, Argentina.

El ptalato es un un componente del polietileno blando que en ratas de ambos sexos tratadas desde el momento de la fertilización, mostro a los 30 dias de edad (peripubertad) un efecto depresor sobre el FSH en el macho, no variando en la hembre, el LH no se afecto en ninguno de los sexos. La disminución del FSH se acompaño de descenso del aspartato y aumento del GABA hipotalámico. Además produjo disminución del peso testicular y la presencia de criptorquidia en el 25% de los casos tratados. El 4-MBC es utilizado como pantalla solar y mostró que en forma aguda a bajas dosis inhibe el eje gonadal en ratas macho adultas (70 dias). Por otra parte, el 4-MBC inhibe el eje gonadal prepuberal (15 días) y estimula el peripuberal (30 días) en ratas macho con altas dosis de 4-MBC administrado durante el desarrollo intrauterino, mientras que bajas dosis de este disruptor solo provocan cambios gonadotróficos en ratas peripuberales y no altera el eje a los 15 días de edad. El bisfenol-A que forma parte de plásticos para envases, mostró que su administración desde el momento del inicio de la preñez, un efecto depresor del LH y FSH en las hembras de 15 días, mientras que a los 30 días, produjo un estímulo en la secreción de LH. El peso de utero y ovarios no varió a los 15 días pero se incremento en ambos a los 30 días. En la rata macho el bisfenol-A administrado de manera similar, produjo a los 15 dias, un aumento del LH, sin cambios en el FSH y peso testicular. A los 30 días, deprime al LH y al FSH y desciende el peso testicular. Se concluye que estos compuestos estudiados ejercen diversos efectos deletereos sobre el desarrollo puberal tanto de machos como hembras ejerciendo acciones de tipo estrogénico o antiandrogénico

SYMP 15-01

L-dopa administration in 6-hydroxy-dopamine-lesioned rats: nitric oxide modulation of behavioral response. FE Padovan-Neto[1], MZ Gomes[1,2], V Tumas[3], EA Del Bel[1], Dept. MEF, [1]Physiology, FORP, [2]Physiology, [3]Neurology, FMRP, Campus USP, Ribeirão Preto, SP, 14049-900, Brazil.

The enhanced behavioural response to repeated dopamine (DA)-replacement therapy seen in 6-hydroxidopamine (6-OHDA)-lesioned rats has pharmacological characteristics similar to 3,4 dihydroxyphenyl-L-alanine (L-DOPA) induced dyskinesia (Henry et al., 1998; Lundblat et al., 2002). The neural mechanisms underlying this behaviour remain unknown. Nitric Oxide (NO) has been proposed as a new neurotransmitter, neuromodulator in the central nervous system. Inhibition of NO synthase (NOS), the enzyme responsible for NO formation, induces an impairment of exploratory and motor behaviour and gives support to the hypothesis that NO plays a role in motor control (Del Bel & Guimarães, 2001). In addition, results have shown an interaction between the NO system and induced neurodegenerative processes in the nigrostriatal pathway (Gomes & Del Bel, 2003). In the present experiments we have examined the effects of an inhibitor of NOS on L-DOPA-induced-rotational behaviour in the 6-OHDA-lesioned rats and compared this to that of L-DOPA-induced dyskinesia. *Methods:* The experiments were carried out according to the Brazilian Society of Neuroscience and Behaviour guidelines for care and use of Laboratory animals. Male albino-Wistar rats (180-200 g) were housed in groups, in a temperature-controlled room with a 12-hour light/dark cycle, with free access to food and water. Rats with unilateral 6-OHDA lesions received single daily injections of L-DOPA (oral, 100mg/kg plus 15 mg/kg benserazide) for three weeks. During this period the rats gradually developed abnormal involuntary movements, lasting 2-3 h following each L-DOPA dose. L-DOPA-induced rotation was potentiated by acute administration of the NOS inhibitor NG-nitro-L-arginine (L-NOARG, 50 mg/kg i.p.) in 6-OHDA-lesioned rats. In contrast following priming by L-DOPA replacement therapy, administration of L-NOARG reduced L-DOPA-induced rotation. Within the L-DOPA-treated group, levels of NOS neurons in dopamine-denervated caudate-putamen were higher in dyskinetic than in non-dyskinetic animals. The results suggest that NOS-inhibitors may have dyskinesiogenic potential in Parkinson's disease and that L-DOPA-induced dyskinesia is associated with overexpression of NOS in striatal projection neurons. Due to its treatment-dependent expression, striatal NOS may play a role in the mechanisms of behavioural sensitization brought

about by the drug. Supported by FAPESP, CNPQ and CAPES. References Henry, B et al., (1998) Exp. Neurol. 151: 334-42; Del Bel EA & Guimarães FS (2000) Psycopharmacol. 147:356-61. Lundblat M et al., (2002) Europ. J. Neurosc. 15: 120-132; Gomes MZ & Del Bel EA (2003) Brain Res. Bull. 62:107-15.

SYMP 15-02

Influence of noradrenergic activation on neurogenesis in the hippocampus of the adult rat brain. R. Raisman -Vozari[1], T. Debeir[1], P. Rizk[1], M. Marien[2], F. Colpaert[2],. [1]INSERM U 289, Paris, France; [2]Centre de Recherche Pierre Fabre, Castres, France.

The adult mammalian brain exhibits neurogenesis in discrete regions including the subgranular zone of the hippocampus. Neurotransmitter inputs and other endogenous factors that may regulate adult hippocampal neurogenesis remain to be better defined. Noradrenaline (NA) has been reported to influence embryonic neurogenesis, and it may also underly the effect of some antidepressants to enhance neurogenesis in the adult hippocampus. In addition, NA depletion is reported to decrease progenitor proliferation in this brain region. We examined here whether activation of the NA system, using systemic treatments with the selective *alpha*2-adrenoceptor antagonist dexefaroxan, could contribute to the regulation of basal adult hippocampal neurogenesis *in vivo*. Adult male Sprague Dawley rats were treated chronically with dexefaroxan (0.63 mg/rat/day for 28 and 70 days via subcutaneous minipump), and hippocampal progenitors were labelled with the mitotic marker bromodeoxyuridine (BrdU). Two BrdU labelling paradigms to assess effects on the proliferation of progenitors and to examine effects on their survival and differentiation were carried out. Dexefaroxan increased the number of hippocampal BrdU labelled cells but did not influence their differentiation. Time course studies indicated that the dexefaroxan treatment did not modify cell proliferation but did protect hippocampal progenitors during their first stage of differentiation. This effect was observed only after chronic treatment with dexefaroxan, whereas an acute treatment (single i.p. injection, 0.63 mg/kg) did not modify the number of BrdU labelled cells. These results indicate that hippocampal neurogenesis can be up-regulated by systemic treatment with an *alpha*2-adrenoceptor antagonist *in vivo*, and support a role for *alpha*2-adrenoceptor mechanisms (possibly involving the control of NA release) in regulating neurogenesis in the adult brain.

SYMP 15-03

Glial cells and inflammation in Parkinson's disease. Maria-Trinidad Herrero Ezquerro. Experimental Neurology. Dept. of Human Anatomy. School of Medicine. University of Murcia. Spain.

The specific degeneration of dopaminergic neurons in the substantia nigra (SN) is a pathological hallmark of Parkinson's disease (PD). Even if both the cause and progression of nigral cell death remain unknown, the involvement of inflammatory events has been postulated because inflammatory features have been described in the brain of PD patients as well as in the brain of chronic parkinsonian monkeys. However, it has not been clearly demonstrated whether resident microglial activation, the most integral part of the brain inflammatory process, and its proinflammatory mediators, will result in a delayed and progressive degeneration of the nigral dopaminergic neurons. Understanding the mechanism for microglia activation-mediated dopaminergic neurodegeneration may contribute to the development of new neuroprotective strategies against PD.

SYMP 15-04

Neuroprotective cell therapy in Parkinson's disease: use of GDNF-secreting dopaminergic carotid body cells. Juan J. Toledo-Aral, Javier Villadiego, Simón Méndez-Ferrer and José López-Barneo. Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Depto. de Fisiología Médica y Biofísica, Hospital Univ. Virgen del Rocío, Univ. de Sevilla, Sevilla, Spain.

Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) produces a notable protective effect on dopaminergic neurons in rodent and primate models of Parkinson's disease (PD). The clinical applicability of this therapy is, however, hampered by the need of a durable and stable GDNF source, allowing the safe and continuous delivery of the trophic factor into the brain parenchyma. Intrastriatal carotid body (CB) grafting induces long-term recovery of parkinsonian animals, not only by the release of dopamine, but also through a trophic effect on nigrostriatal neurons. In fact, the adult rodent CB expresses GDNF. Among the neural or paraneural cells (CB, adrenal medulla, superior cervical ganglion, Zuckerland´s organ and PC12) tested, CB dopaminergic glomus, or type I, cells are those that synthesize and release the highest amount of GDNF in the adult rodent (as measured by standard and "in situ" ELISA assays). Moreover GDNF expression by glomus cells is maintained after intrastriatal grafting and in CBs of aged or parkinsonian MPTP-treated animals. Furthermore, in a clinical study we assessed the feasibility of autotransplantation of CB cell aggregates into the striatum of PD patients. In this pilot study some of the patients who underwent transplantation manifested a measurable degree of clinical and neurochemical improvement. This study shows that intraestriatal CB autograft is a simple, safe and viable therapeutical approach for the treatment of PD patients. Thus, glomus cells appear to be biological pumps useful for the endogenous delivery of GDNF and other trophic factors in PD and other neurodegenerative diseases.

SYMP 16-01

Modulación de la expresión y actividad de óxido nítrico sintasa mitocondrial por hormonas tiroideas. Juan José Poderoso, M.C.Franco, J.Peralta, D. Converso, M.C.Carreras. Laboratorio de Metabolismo del Oxígeno, H. de Clínicas, UBA.

El consumo de oxígeno sistémico disminuye en hipotiroidismo por efectos genómicos y no genómicos sobre mitocondrias, aunque los mecanismos subyacentes no han sido totalmente dilucidados. El oxido nítrico (NO) producido por la óxido nítrico sintasa mitocondrial (mtNOS) es un modulador fisiológico de la respiración y del metabolismo energético celular. Nuestro grupo ha analizado la vinculación entre NO mitocondrial y tiroides en modelos experimentales. En hipotiroidismo se apreció un aumento de la expresión del ARNm de NOS neuronal de más de 3 veces respecto del control, cuantificado por PCR en tiempo real; no se observaron modificaciones en eNOS o iNOS. Los homogenatos de hígado de ratas hipotiroideas se hallaron enriquecidos en nNOS localizada en la fracción mitocondrial; la expresión citosólica de nNOS fue mayor en el grupo tratado con T3, indicando diferente ubicación y concentración subcelular. Se observó un aumento de Hsp 90 (chaperona que estabiliza el dímero de nNOS) en citosoles de ratas hipertiroideas (+ 37%), que podría retener a nNOS en este compartimiento. Los complejos mitocondriales son selectivamente afectados por el estado tiroideo. El complejo II-III no se modificó, mientras que el complejo I se halló marcadamente inhibida en hipotiroidismo (aprox. 60%) por nitración de sus componentes debida a formación de peroxinitrito, Este efecto sería facilitado por la interacción entre mtNOS y complejo I demostrada por co-inmunoprecipitación con anticuerpos anti-subunidad de 39 kDa del complejo I. El mismo efecto pero más atenuado se observó en la citocromo oxidasa, que interacciona con el dominio PDZ de mtNOS. Para demostrar vinculación entre cambios fenotípicos y producción de NO, ratas hipotiroideas recibieron L-NAME durante las últimas tres semanas por vía oral junto con metimazol. L-NAME anuló los efectos de mtNOS sobre el consumo de oxígeno Las mitocondrias de ratas hipotiroideas generan más peróxido de hidrógeno y peroxinitrito, y exhiben una mayor activación de p38MAPK que se relaciona con el arresto celular. Los resultados sugieren que mtNOS contribuye al fenotipo hipotiroideo.

SYMP 16-02

Nitrated Lipids: Detection, Characterization and Modulation of Inflammation. Homero Rubbo, Departamento de Bioquimica y Centro de Radicales Libres e Investigaciones Biomedicas, Facultad de Medicina, Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay.

Nitrated fatty acids (nitroalkenes) have been recently detected in cell membranes and human plasma. However, nitration of arachidonic acid (AA) that could redirect AA-dependent cell signaling pathways, has not been study in detail. Herein, we synthesized and determined the isomer distribution of nitroarachidonate ($AANO_2$) and demonstrated its ability to modulate inflammation. Synthesis of mononitrated nitroalkenes was achieved by AA incubation with sodium nitrite at acidic pH following TLC and/or HPLC separation. Mass spectrometry analysis showed the characteristic MS/MS transition of $AANO_2$ (m/z 348/301) and NMR and IR studies confirmed the presence of four different isomers (9-, 12-, 14- and 15-$AANO_2$), all of them having biological activity. In fact, $AANO_2$ isomers released nitric oxide in aqueous conditions, causing cGMP-dependent vasorelaxation and modulation of macrophage activation. The cellular generation of free and esterified lipid nitroalkenes was also investigated: increased levels of cholesteryl-nitrolinoleate ($CLNO_2$) in macrophages activated by pro-inflammatory stimuli were found, concurrent with increased inducible nitric oxide synthase expression. Moreover, $CLNO_2$ added to activated cells inhibited inflammatory responses, including pro-inflammatory cytokines expression (IL-1β, TNF). All together these data reveal that lipid nitration occurs in response to pro-inflammatory stimuli and that these species serve as adaptative mediators to then down-regulate inflammatory responses.

SYMP 16-03

Hipoxia crónica y cambios adaptativos: el rol del óxido nítrico. María Rivera-Chira, Luis Huicho, Lab. Transporte de Oxígeno, Depto de Ciencias Fisiológícas y Biológicas, Instituto de Investigaciones de la Altura, Facultad de Ciencias, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú.

La hipoxia ambiental produce cambios importantes en los diferentes sistemas del organismo en animales y humanos. Si bien la exposición aguda a la hipoxia desencadena una serie de mecanismos orientados a compensar la baja presión parcial de oxigeno a nivel tisular, la exposición crónica a la hipoxia produce cambios adaptativos, los que sin embargo pueden no desarrollarse o perderse, lo que puede conducir a ciertas patologías que afectan el normal desenvolvimiento de las personas afectadas. Se ha investigado el rol del óxido nítrico (NO) en la hipertensión pulmonar, característica del edema agudo pulmonar de altura (EAPA), encontrándose que el NO inhalado atenúa la vasoconstricción pulmonar inducida por hipoxia aguda y redirecciona el flujo sanguíneo hacia áreas sin edema, siendo controversial sus efectos sobre la saturación de oxigeno. En la hipoxia crónica, hay evidencias que sugieren que los nativos de altura desarrollan una respuesta adaptativa traducida en un incremento de la capacidad de síntesis de NO, que contribuye a la entrega de O2 hacia los tejidos, sin incremento de la presión arterial. Se requiere de más estudios comparativos en especies genéticamente adaptadas a la hipoxia crónica y en especies no adaptadas, con muestras grandes y controles apropiados, en nativos sanos y en aquellos con Mal de Montaña Crónico, para determinar la real magnitud de dicha respuesta adaptativa y en qué medida dichos cambios pueden ser genéticos o ambientales.

SYMP 17-01

Regulation of cardiac calcium signalling. David Eisner, University of Manchester

Contraction in the heart is initiated by the systolic Ca transient. Most of this calcium is released from an intra-

cellular store, the sarcoplasmic reticulum (SR) via the process of calcium induced calcium release (CICR) in which the entry of a modest amount of Ca into the cell (via the L-type Ca current) opens the SR Ca release channel (known as the Ryanodine Receptor, RyR). Relaxation occurs when Ca is removed from the cytoplasm either by being pumped back into the SR (by the SR Ca-ATPase, SERCA) or out of the cell by Na-Ca exchange (NCX). The amplitude of the Ca transient is a steep function of SR content and this therefore means that, in order to control the force of contraction, the SR Ca content must be regulated. This occurs by a simple mechanism whereby an increase of SR content increases the amplitude of the Ca transient leading, in turn, to a decrease of Ca influx into the cell and increased Ca efflux. These changes then produce a compensatory change of SR Ca (see Eisner et al (2000). Circ Res 87, 1087-1094 for review). One example of the profound effects of this regulatory mechanism is provided by the effects of modifying the open probability of the RyR. Potentiation of RyR opening (with low concentrations of caffeine) results in an initial increase of the amplitude of the systolic Ca transient that then decreases back to levels identical to control. This is because the initial increase of the Ca transient amplitude increases Ca efflux from the cell and thereby decreases SR content. If SR Ca content is increased excessively then spontaneous waves of Ca release are observed. These waves activate the electrogenic NCX and can produce delayed afterdepolarizations and thence arrhythmogenic extrasystoles. The final part of the talk will consider the mechanism of this spontaneous Ca release and how it may be treated therapeutically.

SYMP 17-02

Fosforilación de proteínas que manejan el calcio intracelular. Cecilia Mundiña-Weilenmann, Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Universidad Nacional de la Plata, La Plata, Argentina.

La fosforilación de proteínas es un mecanismo generalizado a través del cual puede modificarse la función celular. La gran mayoría de las proteínas que intervienen en el acoplamiento éxcito-contráctil en el miocardio son susceptibles de ser fosforiladas. En especial nuestro interés se centra en 2 proteínas del retículo sarcoplasmático (RS): la fosfolamban (PLN), proteína reguladora de la retoma de Ca^{2+} por el RS, principal determinante de la caída de Ca^{2+} citoplasmático que conduce a la relajación, y el canal liberador de Ca^{2+} del RS, o receptor de rianodina tipo 2 (RyR2), que participa de la liberación de Ca^{2+} inducida por el Ca^{2+}. PLN posee 2 residuos capaces de ser fosforilados: Ser16 (sitio de la PKA) y Thr17 (sitio de la CaMKII). RyR2 es una macromolécula con por lo menos 3 sitios de fosforilación: Ser2809 (cuya fosforilación se discute pueda llevarse a cabo tanto por PKA como por CaMKII), Ser2815 (sitio CaMKII) y Ser2030 (sitio PKA). Si bien es conocido que durante la estimulación β-adrenérgica se activa la vía de la PKA, muchas veces se ignora que simultáneamente aumenta la actividad de la CaMKII. Nuestro objetivo fue estudiar en corazones perfundidos de rata, la importancia relativa de las fosforilaciones dependientes de CaMKII de PLN y RyR2 y su impacto funcional durante la estimulación β-adrenérgica. Los resultados nos permitieron concluir que durante la estimulación β-adrenérgica, la fosforilación por CaMKII de PLN colabora con la fosforilación dependiente de PKA en determinar el efecto relajante de estos agonistas. Por otra parte, la fosforilación por CaMKII del RyR2 parece ser la principal responsable del aumento de la actividad del canal durante la estimulación β-adrenérgica.

SYMP 17-03

Redox regulation of calcium handling proteins in the heart. Paulina Donoso, Gina Sánchez, Cecilia Hidalgo. Instituto de Ciencias Biomédicas and Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Cardiac muscle contraction is produced by the release of calcium from the sarcoplasmic reticulum (SR) through Ryanodine receptors/calcium release channels (RyR). For relaxation, calcium is pumped back into the SR by the Ca^{2+}-ATPase (SERCA). Increasing the heart rate by electrical tachycardia or by exercise increases both the rate of calcium release and the rate of calcium uptake in SR vesicles isolated from these hearts. The increase in the heart rate also increases the production of reactive oxygen species (ROS) by isolated cardiac SR vesicles. RyR and SERCA are both sensitive to redox regulation, therefore we investigated the source responsible for the increased ROS generation and the induced redox changes in RyR and SERCA that could account for their increased activity. In SR vesicles, we found that tachycardia and exercise increased the activity of NADPH oxidase, a superoxide anion producing enzyme. We also found that RyR and SERCA, are endogenously *S*-glutathionylated, and the increase in cardiac activity produced a 2-fold increase in the amount of *S*-glutathionylation of these proteins compared to controls. *In vivo* administration of apocynin, a NADPH oxidase inhibitor, prevented both the increase in ROS generation and the increase in *S*-glutathionylation of RyR and SERCA in SR vesicles. *In vitro* activation of the NADPH oxidase present in SR vesicles produced an increase in RyR *S*-glutathionylation, with a concomitant increase in RyR activity, an effect that was blocked by ROS scavengers. These results suggest that the increased NADPH oxidase activity induced by tachycardia and exercise is responsible for the increase in RyR and SERCA *S*-glutathionylation. This mechanism may be one of the primary factors that cause the higher activity of these two proteins when cardiac activity is increased. Grants Fondecyt 1030449 and FONDAP 15010006

SYMP 17-04

The role of ryanodine receptor dysfunction in cardiac arrhythmias. Xander H.T. Wehrens. Dept. of Molecular Physiology and Biophysics, and

Medicine (Division of Cardiology), Baylor College of Medicine, Houston, TX 77030, USA

Cardiac arrhythmia is an important cause of death in patients with heart failure (HF) and inherited arrhythmia syndromes, such as catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia (CPVT). Recent studies indicate that alterations in intracellular calcium (Ca^{2+}) handling may play an important role in the initiation of these arrhythmias. Our work has shown that defective regulation of Ca^{2+} release from the sarcoplasmic reticulum (SR) via intracellular Ca^{2+} release channels (ryanodine receptors, RyR2) increases the propensity to ventricular arrhythmias. Inherited arrhythmias in the RyR2 gene have been linked to exercise-induced ventricular arrhythmias and sudden cardiac death in patients with CPVT. We have demonstrated that arrhythmogenic mutations in RyR2 alter the subunit composition of the calcium-release channel macromolecular complex, resulting in decreased binding of the channel-stabilizing subunit calstabin2 and an increased open probability at diastolic Ca^{2+} levels. Aberrant opening of RyR2 channels during diastole, when the channel normally remains closed, may initiate delayed afterdepolarizations and triggered activity leading to ventricular arrhythmias. A new class of drugs called 'calcium channel stabilizers' may specifically correct these molecular defects found in heart failure and arrhythmias by increasing the the binding affinity calstabin2, thereby preventing abnormal diastolic Ca^{2+} release. These novel therapeutic approaches, based on recent advances in our understanding of the cellular mechanisms underlying arrhythmias in heart failure and CPVT, are currently being evaluated for clinical use.

SYMP 18-01

Cellular and molecular mechanisms in O_2 sensing in carotid body chemoreceptor cells. Constancio Gonzalez, Mª Teresa Agapito, Asunción Rocher, Ricardo Rigual and Ana Obeso. Depto de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. España.

Mammalian cells depend on O_2 availability to perform adequately their functions. O_2-defiency or inability to its usage is termed hypoxia, and it causes deleterious effects to bodily functions. Hypoxia, when physiological, i.e., high altitude hypoxia, generates *adaptative* responses aimed to minimize hypoxia and its deleterious effects. The rest of hypoxias produce *compensatory* responses which are also aimed to lessen hypoxic damage. Adaptative responses are generated by cell stirpes endowed with special properties: they possess a low hypoxic threshold, a metabolic machinery capable of supporting strong activity in hypoxia and they are at the origin of functional loops devoted to assure O_2 supply to the entire organism. Cell stirpes generators of adaptative responses include pulmonary artery smooth muscle cells, carotid body chemoreceptor cells and erythropoietin producing cells, the two former generating fast membrane-linked responses, and the last slow gene-transcription dependent responses. Chemoreceptor cells have an O_2 threshold close to 70-75 mmHg, implying that in vivo they are activated when hemoglobin saturation is ≈95%, and their activity increases as hypoxia deepens. Chemoreceptor cell activation sets into motion a regulatory loop, the chemoreflex, which by increasing ventilations tends to minimize hypoxia in the organism. Aside from this general considerations, in my presentation I shall update what it is known at the cellular and molecular levels on the mechanism of O_2-detection and activation of chemoreceptor cells in hypoxia. Putative O_2-sensors, O_2-regulated ion channels and oxygen reactive species and their and potential ensemble will be discussed. Supported by Grants BFU2004-06394 (DGICYT), PI042462 (FIS) and VA045/04 (JcyL).

SYMP 18-02

Prolylhydroxylases as oxygen sensors: Role in the degradation of hypoxia inducible transcription factor. Manuel O. Landázuri. Servicio de Inmunología. Hospital de la Princesa. Universidad Autónoma de Madrid. España.

Hypoxia inducible transcription factors (HIF) are essential for the induction of an adoptive gene expression program under low oxygen tension. HIFα subunits are extremely short lived under normal oxygen tension due to efficient proteosomal degradation. HIF degradation is triggered by the hydroxylation of specific proline residues. This hydroxylation is catalyzed by a family of enzymes known as prolylhydroxylases (PHD) that utilize molecular oxygen for the hydroxylation reaction. Thus under limiting oxygen tension proline hydroxylation is compromised, HIF escapes of the degradation pathway and accumulates. HIF-1α contains two independants prolines that have been found to be hydroxylated by the prolylhydroxylases and each of these prolines with the adyecent residues constitute what is called an oxygen dependant degradation domain (ODD). These domains are mamed N-ODD corresponding to proline 402 and C-ODD corresponding to proline 564, and both contains the motif LXXLAP that is conserved from nematodes to mammals suggesting and important role of these residues for PHD binding. Different members of the prolylhydroxylases family (PHD1, 2 and 3) show a differential preference for the sequence containing N-ODD or C-ODD residues. Both N-ODD and C-ODD are substrates in vitro for PHD 1 and PHD 2. In contrast PHD3 only hydroxylates C-ODD. In addition to these studies it has been demonstrated that both isolated ODD are able to drive protein degradation in mammalian cells. However the relative contribution of each site in the regulation of full length HIFα or the specificity of each PHD for the different sites in vivo are issues that wait to be fully elucidated. Thus, PHDs have different substrate preferences, both in vivo and in vitro, yet the sequence determinants responsible for this substrate discrimination remain unclear. Moreover, in contrast to the effort dedicated to the identification of the sequence determinants in substrates, no attention has been paid to the regions within PHDs responsible for their different

target preference. We have investigated the regulation of each ODD by individual PHD in vivo and found that PHD1 and PHD2 are able to regulate HIF by acting on either of the two ODDs while PHD3 only recognizes CODD. Through the study of the substrate preference of PHD deletions and chimerical constructs we identified the region that determines PHD substrate binging.

SYMP 18-03

Respuesta del cuerpo carotídeo a la hipoxia intermitente en un modelo animal del síndrome de apnea del sueño. R. Iturriaga. Laboratorio de Neurobiología. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

La hipoxia intermitente crónica (HIC), caracterizada por episodios hipóxicos de corta duración seguidos por normoxia, como ocurre en la apnea obstructiva del sueño (AOS), constituye el patrón hipóxico crónico más común en humanos. Los pacientes con AOS desarrollan hipertensión y potenciación de las respuestas ventilatorias, simpáticas y cardiovasculares a la hipoxia aguda, atribuidas a un aumento de reactividad del cuerpo carotídeo (CC). Sin embargo, los efectos de la HIC son difíciles de evaluar en los humanos, ya que no se puede controlar el patrón hipóxico o separar los efectos de las comorbilidades. Para entender los mecanismos responsables de la aparición de respuestas reflejas potenciadas se necesitan estudios en modelos animales. Gatos despiertos se expusieron a ciclos hipóxicos (PO_2 ~75 Torr) de 2 min seguidos por 4 min de normoxia, durante 8 horas por 4 días. Al quinto día, estudiamos las respuestas cardiovasculares, ventilatorias y quimiosensoriales inducidas por la hipoxia aguda en los animales anestesiados con pentobarbitona. La HIC aumentó la descarga quimiosensorial basal y potenció las respuestas ventilatorias y quimiosensoriales a la hipoxia aguda. Produjo además cambios del balance autonómico de la variabilidad cardíaca, con predominio del componente simpático, similar a lo observado en pacientes con AOS. La endotelina-1, un potente excitador quimiosensorial, esta aumentado 10-veces en forma local en los CCs de gatos sometidos a HIC. El bloqueo de los receptores ET_A y ET_B reduce las respuestas quimiosensoriales potenciadas en los CC sometidos a HIC. Los resultados indican que la HIC potencia las respuestas quimiosensorial y ventilatoria a la hipoxia, y que un aumento local de la endotelina-1 en el CC contribuiría a la potenciación quimiosensorial. Financiamiento FONDECYT 1030330

SYMP 18-04

Hypoxic Pulmonary vasoconstriction. Francisco Perez-Vizcaino Dept. Farmacología. Fac Medicina, Univ Complutense de Madrid.

Hypoxic pulmonary vasoconstriction (HPV) is a highly conserved adaptive physiological mechanism that optimizes blood oxygen saturation by increasing pulmonary vascular resistance in poorly aerated lung regions, thereby diverting pulmonary blood flow to the better ventilated ones. However, generalized alveolar hypoxia leads to HPV in the whole pulmonary vascular tree and, hence, pulmonary hypertension (PH). On the contrary, failure of HPV is often a critical determinant of hypoxemia in several respiratory diseases. Despite intensive research, the molecular basis of HPV remains one of the more enduring mysteries in cell physiology. HPV reflects an intrinsic property of the small pulmonary artery smooth muscle cells (PASMC) in response to alveolar hypoxia. Currently, the most widely accepted hypothesis is that hypoxia inhibits voltage-gated K^+ (K_V) channels in pulmonary arteries (PA), depolarizing cell membrane and opening voltage-dependent L-type Ca^{2+} channels. This is thought to be a general mechanism for O_2 sensing cells as initially proposed in the carotid body. An additional/alternative mechanism for HPV may involve hypoxia-induced increase in capacitative Ca^{2+} entry. The mechanism is supposed to involve a putative redox-based O_2 sensor and there is a large body of evidence indicating a role of the reactive oxygen species (ROS) superoxide (O_2^-) and hydrogen peroxide (H_2O_2) in the process. However, the questions of whether ROS generation is decreased or increased during hypoxia, the sources and the targets of ROS are still controversial.

SYMP 19-01

Impacto de los micronutrientes en la función renal. Cristina Arranz. Cátedra de Fisiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. IQUIMEFA-CONICET. Buenos Aires. Argentina

El riñón se desarrolla mediante un complejo proceso que involucra una controlada expresión de genes y constante remodelamiento. El crecimiento fetal y desarrollo son determinados por el genoma fetal y la capacidad materna y de la placenta para administrar los nutrientes al feto. Cuando en los períodos críticos del desarrollo se produce alguna agresión, como la inadecuada nutrición, ocurren en el útero se produce un mecanismo de programación por los cuales se inducen cambios adaptativos que pueden ser permanentes en el tiempo y están relacionados con alteraciones en el crecimiento de los órganos, en su estructura, su fisiología y metabolismo. Si bien numerosos trabajos muestran la influencia de la deficiencia proteica durante el crecimiento fetal y posnatal temprano existen también evidencias de la importancia de los micronutrientes, elementos traza de la dieta, en el desarrollo renal y su función en el adulto. Esta presentación reseñará la relación entre la deficiencia de zinc durante estos períodos de la vida y el desarrollo de patologías renales que pueden relacionarse con un aumento del desarrollo de hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular en el adulto.

SYMP 19-02

Abstract not available.

SYMP 19-03

Renin-angiotensin system (RAS) inhibition attenuates the decrease in mtDNA content related to aging Elena MV de Cavanagh[1], Felipe

Inserra[1], Idhaliz Flores[2], Leon Ferder[2]. 1. Instituto de Investigaciones Cardiológicas. Facultad de Medicina. UBA-CONICET 2. Ponce School of Medicine, Ponce, Puerto Rico

Chronic RAS inhibition increases survival and amelioratesage-associated mitochondrial dysfunction in rodents. To investigate if the protective effect afforded by RAS inhibition could be related to changes in the accumulation of mitochondrial DNA (mtDNA) "common deletion") mtADN[4834]), 4-month-old Wistar rats were treated with drinking water containing. Enalapril (10 mg/kg.day, E), or Losartan (30 mg/kg.day, L), or plain water (0), for 18 months. Four month old rats were young controls (Y). At the en of treatment the rats were anesthetized with pentobarbital (50 mg/kg), and the livers were excised. These were processed for DNA extraction, and isolation. The frequency of mtADN[4834] and the mtDNA /nuclear DNA ratio (an estimation of mtDNA copy number) were determined by real time PCR, using SYBRGreen. Isolated mitochondria were used to determine hydrogen peroxide production rate (flurometry), Mn-SOD activity (spectrophotometry), O_2 consumption (O_2 electrode) and NOS activity (conversion of ^{14}C-Arg to ^{14}C-citrulline). The frequency of mtADN[4834] showed no differences among the groups studied. However there were differences in: a) mtDNA/nuclear DNA ratio, 1.15±0.16 (V), 1.61±0.05#* (E), 1.62±0.04'l (L), 3.2±006* (J); b) H_2O_2 production rate (nmol/min.mg protein), 9.42±0.91 (V), 6.76±0.93* (E), 6.34±0.88* (L) y 2.99±0.58* (J); c) Mn-SOD (U/mg protein), 64.1±0.20 (V), 35.4±0.21* (E), 33.6±0.43* (L), 30.9±0.27* (J); d) ADP/0, 1.75±0.22 (V), 2.79±0.41* (E); 3.23±0.30* (L), 3.01±0.54* (J); e) mtNOS (nmol citrulline/min.mg protein), 0.69±0.04 (V), 1.01±0.07* (E), 1.21±0.43* (L), 1.05±0.11* (J)(# $p<0.05$ vs. J, * $p<0.05$ vs. V). Since mtDNA encodes for 13 polypeptides of the mitochondrial electron transport chain, the attenuation of age-related mtDNA copy number decrease by RAS inhibition may be involved in the amelioration of mitochondrial function.

SYMP 19-04

Control paracrino por el endotelio de los capilares peritubulares de la función tubular proximal. Carlos Amorena. Escuela de Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de General San Martín.

La estrecha contigüidad entre el endotelio capilar y el epitelio tubular sugiere que a esta relación anatómica le pueda corresponder un correlato funcional, similar al que ha sido descripto en los vasos sanguíneos. En ese sentido hemos descripto un control paracrimo del funcionamiento del intercambiador Na^+-H^+ de la membrana apical del túbulo contorneado proximal (TCP). La Bradiquinina (BK), la Acetilcolina y el ATP, todos agonistas de la formación de NO. en el endotelio vascular, inducen un aumento del flujo de H^+ (J_{H^+}) hacia la luz tubular cuando se aplican en el capilar peritubular. Este efecto es mediado por cGMP y es inhibido por L-NAME, un antagonista de la formación de NO. Otro agonista de la formación de NO, el "shear stress" (*ss*), aumentado por cambios en la viscosidad (η) de las soluciones perfusoras peritubulares, induce un aumento del J_{H^+} hacia la luz tubular y su efecto también es bloqueado por el L-NAME. Este efecto del *ss* es importante si tenemos en cuenta que como resultado de la filtración glomerular se produce un incremento importante de la η de la sangre en la arteriola eferente y que cerca del 70% de la reabsorción de Na^+ en el TCP está asociada a la reabsorción de HCO_3^-.El NO· u otro factor generado en el endotelio, induce una hiperpolarización del músculo liso vascular. Hemos descripto un efecto hiperpolarizante en la membrana basolateral del TCP inducido por BK y aumento en la η en el capilar peritubular. Este efecto fue bloqueado por L-NAME y por glibenclamida, un bloqueante de canales de K^+-ATP sensibles. Estos resultados sugieren que el endotelio de los capilares regula la función del epitelio tubular a través de la liberación de NO.

SYMP 20-01

Circadian disorganization and cardiovascular-renal disease. Martin R. Ralph[1], Tami Martino[2], Naznine Tata[2], Gavin Oudit[2], Andrew Herzenberg[3], Margaret Koletar[1], Denise D. Belsham[2], Peter H. Backx[3], Michael J. Sole[2], [1] Centre for Biological Timing and Cognition, Dept. Psychology, Univ. Toronto; [2] Depts. Medicine, Physiology, Heart and Stroke Richard Lewar Centre of Excellence, Univ. Toronto; [3] Dept. Pathology, Princess Margaret Hospital, Toronto, Canada.

We demonstrate a causal relationship between circadian rhythm disorganization and cardiovascular-renal disease using two animal models: (1) the circadian period mutant hamster, *tau*, and (2) a mouse model of induced pressure overload hypertrophy. Genotype +/*tau* hamsters (natural circadian period = 22 hours) raised on 24 hour days, die prematurely and exhibit dilated cardiomyopathy with extensive fibrosis and severely impaired contractility; they also have severe renal disease with proteinuria, tubular dilatation, and cellular apoptosis. However, when +/*tau* hámsters are raised on 22 hr days, the temporal relationship is normalized, and the cardiorenal phenotype is completely eliminated - hearts and kidneys show normal structure and function. In the second model, we show remarkable and pervasive conservation of rhythmic gene expression in two aspects of cardiovascular disease (hypertrophic heart and hypotensive aorta) using oligonucleotide arrays and bioinformatic analysis. Peaks of gene expression occur at different circadian phases in the two tissues but timing is unaltered in the disease state. Nonetheless, a loss of normal circadian entrainment (exposure to a 20 hr day) greatly exacerbates cardiac pathophysiology and disorganizes peripheral and central clock gene expression. Mice that are returned after 8 weeks of desynchrony to a regular 24 hour entrainment cycle, restore their molecular clockwork cycling and exhibit reverse (beneficial) remodeling in the heart. Therefore, circadian rhythm disorganization is a significant risk factor in heart and

kidney disease.

SYMP 20-02

Circuit and System Properties of the Mammalian Brain Clock. Rae Silver, Barnard College,Columbia University 3009 Broadway NYC NY 10027 and National Science Foundation, Arlington, VA 22230.

The mammalian suprachiasmatic nucleus (SCN) is the locus of a "circadian clock" that regulates rhythms in both physiology and behavior. While this function is well established, it is not known how the 20,000 neurons that comprise the nucleus are synchronized and consequently generate a coherent output signal. The mystery starts with the fact that circadian rhythmicity is a cellular property, but that individual SCN cells have different endogenous periods and perhaps phases. Heterogeneity among SCN neurons is also seen in inputs and outputs, neuronal morphology, peptides and "clock" gene expression. Our research focuses on understanding SCN organization. We have found that some SCN neurons, including GRP cells of the 'core' in mouse SCN are not detectably rhythmic (assessed by clock gene expression and electrical activity), but respond to photic input. Other SCN neurons, including vasopressin-containing cells of the 'shell' SCN are rhythmic. Because both hamster and mouse SCN share these characteristics, we propose that it is a general feature of mammalian brain clocks. Furthermore, we find that in mouse, gonadal hormones play a *major* role in regulating locomotor activity; gonadectomy produces a lengthening of free-running period, a loss of precision, and complete loss of the daily activity onset bout. We are exploring the cellular basis of this response to understand the network organization of the SCN, and how it is modulated by internal and external stimuli. Because the inputs, outputs and functions of this nucleus are well understood, studies of the circadian system promise to reveal general principles of circuit organization in the mammalian BRAIN. SUPPORTED BY NINDS 37919

SYMP 20-03

Diurnal rhythms of brain cytokines; do they play a role in physiological sleep regulation? James M. Krueger, Programs in Neurobiology, Washington State University, Pullman, WA.

Cytokines such as tumor necrosis factor alpha (TNF) seem to play a role in sleep regulation in health and disease. Thus, hypothalamic and cerebral cortical levels of TNF mRNA or TNF protein have diurnal variations (2 and 10 fold respectively) with high levels corresponding with greater sleep propensity. Sleep loss is associated with enhanced brain TNF. If TNF is injected either systemically or centrally sleep is enhanced. Inhibition of TNF using the soluble TNF receptor, or anti-TNF antibodies, or a TNF siRNA reduces spontaneous sleep. Mice lacking the TNF 55 kD receptor have less spontaneous sleep. Injection of TNF into sleep regulatory circuits, e.g. the hypothalamus, promotes sleep. In normal humans plasma levels of TNF co-vary with EEG slow wave activity (SWA) and in multiple disease states plasma TNF increases in parallel with sleep propensity. Neuronal use induces cortical neurons to express TNF (like Fos) and if applied directly to cortical columns TNF induces a functional sleep-like state within the column as determined from surface evoked potentials. Glutamate also induces TNF in neurons and TNF mechanistically promotes synaptic scaling. TNF unilateral application to the surface of the somatosensory cortex induces state-dependent enhancement of EEG SWA ipsilaterally suggesting that regional sleep intensity is enhanced. Similar state-dependent enhancements of EEG SWA are also observed regionally after disproportionate stimulation of localized areas of the cortex whether this is accomplished by learning paradigms or by afferent stimulation. Such data led to the idea that sleep is a distributed process in brain being a fundamental property of neuronal assemblies such as cortical columns and being dependent upon past activity within such assemblies. This view of brain organization of sleep has profound implications for sleep function. Supported by the NIH-USA grant No's. NS25378 and NS31453.

SYMP 20-04

Dual Oscillators in the Suprachiasmatic Nucleus and the Orchestration of Physiologcial and Behavioral Rhythms. Horacio de la Iglesia, Department of Biology, University of Washington, Seattle, WA, USA.

In mammals, the master control of ciradian rhythms is exerted by a biological clock located in hypothalamic suprachiasmatic nucleus (SCN). The master control of circadian rhythmicity by the SCN is essential for the synchronization of rhythms to the light dark cycle as well as for the phase coordination between different rhythmic modalities. This *internal synchronization* can be disrupted under temporal challenges such as jet-lag and nocturnal shift work and it can be experimentally altered using *forced desynchrony* protocols in which the experimenter. Although these protocols have been used for over a half century to unmask key features of the human circadian system, the neural (or peripheral) basis for desynchronization is unknown. We have recently developed an animal model of forced desynchronization. Our studies show that in the rat, forced desynchronization of the ventrolateral and dorsomedial SCN leads to desynchronization of core body temperature and rapid eye movement sleep (REMS) from the overt rest activity cycle and non-REMS as that observed in internally desynchronized humans. We propose that the substrate for circadian desynchronization in humans, an underlying feature in circadian pathologies, may reside within the master circadian pacemaker itself.

SYMP 21-01

Regulación de la síntesis de AEA durante el proceso de implantación en la rata. María Laura Ribeiro, Micaela Sordelli, Claudia Vercelli, Silvia Billi, Ana Franchi. Laboratorio de Fisiopatología de

la Preñez y el Parto, CEFYBO (CONICET – Fac. Medicina), Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

La anandamida (AEA) es un endocanabinoide sintetizado por el útero murino durante la preñez temprana. En humanos, niveles elevados de AEA están asociados a fallas en el proceso de implantación y el desarrollo embrionario. En nuestro laboratorio hemos estudiado la regulación de la síntesis de AEA durante el ciclo estral y la preñez temprana utilizando los siguientes modelos experimentales en la rata: 1- hembras en distintos días del ciclo estral; 2- hembras preñadas control; 3- hembras preñadas con implantación tardía (IT); 4-hembras pseudopreñadas (psp). Los modelos de IT y psp permiten manipular los cambios uterinos relacionados con la preñez temprana y utilizarlos como herramientas para la comprensión de los roles que juegan los embriones y las hormonas ováricas durante la implantación. En el ciclo estral, la síntesis de AEA fue máxima en el estro y en las hembras ovariectomizadas, tanto el estradiol como la progesterona fueron capaces de estimular la síntesis de AEA (0.46±0.03 y 0.51±0.03 vs 0.32±0.03 nmoles AEA/mg prot/1h, $p<0.01$). Durante la preñez temprana, la síntesis de AEA se mantuvo constante hasta el día 5 de gestación (1.40±0.13) disminuyendo hacia el día 6 ($p<0.01$). Además, en los sitios implantatorios la síntesis de AEA fue menor que en los intersitios ($p<0.05$). En el modelo de IT, mientras que la progesterona no modificó la producción de AEA, el estradiol la inhibió significativamente (0.07±0.01 vs 0.16±0.02, $p<0.001$). Durante la psp, la síntesis de AEA no disminuyó hacia el día 6, como había ocurrido en la preñez control. Estos resultados indican que en el útero de rata la síntesis de AEA está modulada selectivamente por las hormonas ováricas, estradiol y progesterona, y por el blastocito, modulando así los niveles de este endocanabinoide en momentos claves de la preñez temprana como la implantación.

SYMP 21-02

Estradiol (E_2) y progesterona (P_4) modifican la velocidad de transporte ovular en la rata regulando la actividad contráctil del músculo liso en el oviducto. Manuel J. Villalón. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile.

El transporte de óvulos y embriones a través del oviducto, depende en parte de la acción coordinada de la capa de músculo liso que forma la pared de este órgano. En la rata, la administración de E_2 acelera el transporte ovular, reduciendo en forma significativa el número de embriones que se implantan en el útero. Este efecto es bloqueado por la administración simultánea de P_4. Sin embargo, los mecanismos celulares mediante los cuales las hormonas ováricas afectan la velocidad de transporte, no se han establecido. La actividad contráctil coordinada del músculo liso es facilitada por la comunicación intercelular mediada por uniones en hendidura (UH), formadas por conexinas (Cxs). La comunicación intercelular mediada por UH, facilitan la propagación de ondas de calcio (ICWs), que son importantes en la coordinación de funciones celulares. En la rata usamos el registro del movimiento de microesferas (ME) en el oviducto, para evaluar la contractibilidad tubárica, en animales tratados con E_2 y/o P_4. Determinamos el efecto de E_2 y P_4 en la producción de óxido nítrico (NO) y su correlación con los cambios en la actividad contráctil del oviducto. En cultivos primarios de células musculares lisas (SMCs) obtenidos del oviducto, medimos el acoplamiento celular usando la técnica de amarillo de lucifer y la propagación de ICWs mediante imágenes fluorescentes de calcio, después de una estimulación mecánica. La expresión de Cx43, el acoplamiento celular y la velocidad de propagación de ICWs coinciden con un incremento en la velocidad de transporte de las ME, después del tratamiento con E_2. El tratamiento con E_2 y P_4 produce un aumento en la producción de NO en el epitelio, que coincide con una disminución en la velocidad de transporte de las ME. Nuestros resultados sugieren que las hormonas ováricas modifican la actividad contráctil del músculo mediante la producción de moléculas específicas que regulan la funciones celulares del oviducto. FONDECYT 1040804.

SYMP 21-03

Mecanismos de renovación celular en la adenohipófisis. Gabriela Jaita, Marianela Candolfi, Verónica Zaldivar, Sandra Zárate, Luciana Ferrari, Daniel Pisera, Adriana Seilicovich. Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

En la adenohipófisis ocurre un proceso de renovación celular durante el ciclo estral que es dependiente de los esteroides gonadales. Aunque el hecho de que se produzca proliferación y muerte de células adenohipofisarias, especialmente de lactotropos, en estadíos específicos del ciclo estral es bien conocido, los mecanismos subyacentes no han sido aún completamente dilucidados. El estradiol participaría en la renovación celular adenohipofisaria sensibilizando a las células no sólo a estímulos mitogénicos sino también a señales proapoptóticas. La expresión cíclica local de factores de crecimiento y citoquinas inducida por el estradiol participaría en la actividad proliferativa y apoptótica cíclicas en las células adenohipofisarias. Considerando que la expresión de TNF-α y del sistema Fas/FasL en células adenohipofisarias es predominante en proestro y estimulada por el estradiol, es posible que estos mediadores participen en el proceso de renovación celular adenohipofisaria durante el ciclo estral, induciendo apoptosis de lactotropos y somatotropos durante el proestro. La progesterona actuaría como un factor de supervivencia en la pituitaria anterior. Aunque el porcentaje de células adenohipofisarias renovadas en cada ciclo sexual es pequeño, las alteraciones de este proceso de renovación durante la vida reproductiva pueden tener consecuencias e incidir en la generación de hiperplasia o tumores hipofisarios.

SYMP 21-04

The dopaminergic D2R knockout mouse: an animal model of resistant prolactinomas. Carolina Cristina, Isabel García Tornadú, María Inés Perez Millán, Marcelo Rubinstein,Graciela Díaz-Torga. Damasia Becu-Villalobos, IBYME-CONICET. V. Obligado 2490. Buenos Aires

Dopamine type 2 receptor (D2R) knockout mice (KO) have chronic hyperprolactinemia, and pituitary hyperplasia. They are also growth retarded evidencing and alteration in the GH-IGF-I axis. In D2R KO mice prolactin levels are always higher in female than in males, and in accordance, pituitary hyperplasia is observed at 8 months only in females. After 16 months of age highly vascularized adenomas develop, especially in females, but also in males. Prominent vascular channels in the hyperplastic and adenomatous pituitaries, as well as extravasated red blood cells not contained in capillaries are also common findings. High serum prolactin is not the factor that enhances the hyperplastic phenotype in females while estrogens have a permissive action. We studied the participation of angiogenic factors in this animal model of resistant prolactinomas. VEGF-A expression was increased in pituitaries from D2R KOs, and expressed in folliclestellate cells. Because D2R are found in lactotropes and not in folliclestellate cells it may be inferred that a paracrine-derived factor from lactotropes is acting on folliclestellate cells to increase VEGF-A expression. VEGF-A did not induce pituitary cell proliferation, even though it enhanced prolactin secretion. Nevertheless, it increases the proliferation of endothelial cells and may participate in the angiogenic process that increases the availability of different growth factors and mitogens to the gland. Pttg and FGF-2, on the other hand were decreased in the hyperplastic pituitary, in relation to the relatively benign nature of these tumors. The D2R knockout mouse represents a unique animal model to study dopamine-resistant prolactinomas, and VEGF-A may be an alternative therapeutic target in this pathology

SYMP 22-01

Eritropoyetina intranasal previene el deterioro de la actividad motora espontánea, en ratas sometidas a hipoxia-isquemia por inyección intracerebral focal de Cl_2Co. Merelli A[1,2], Azcurra J[3,4], Caltana L[2], Ramos J [2,4], Brusco A [2,4], Lazarowski A[1,2]. 1. Dpto. Bioq. Clínica-FFyB-2. Inst. de Robertis, Fac. Medicina-3. FCEyN, (UBA)- 4. CONICET. Argentina

El stroke isquémico constituye la 2da.causa de muerte en el mundo y la enfermedad neurológica discapacitante más importante. Si bien la causa del fracaso de las estrategias farmacológicas se relaciona con la estrecha ventana terapéutica del stroke, sus mecanismos no han sido dilucidados. Dado que la hipoxia estimula la producción de eritropoyetina (Epo) y/o su recptor, el uso terapéutico la Epo recom-binante humana (Epo-rh) podría resultar una opción terapéutica de neuroprotección, aún poco inves-tigada. **Objetivo**: Estudiar si la admnistración vía i.p. o intranasal (IN) de Epo-rh, ejerce algún efecto protector contra el deterioro de la actividad motora espontánea (AME-Open field), en un modelo de hipoxia isquemia focal inducido por Cl_2Co. **Métodos:** Ratas Wistar-macho no hipóxicas (NH) (250 grs) recibieron 950U (4000U/kg-i.p;n=3) o 24U(IN;n=3) de Epo-rh. Su acción biológica fue analizada por reticulocitos periféricos *(%-ret*) los días 1-3 post dosis. Otros tres grupos de 3 ratas fueron evaluados con AME en condiciones basales (NH), y luego de inyectar $CoCl_2$ (2□l-5mM) en las capas 2-3 de corteza cerebral frontoparietal derecha (Bregma–1.3mm), por cirugía estereo-táxica, bajo anestesia. A los 10´ recibieron sol. fisiolgica IN (n=3), Epo-rh ≈950U (4000U/kg) i.p (n=3) o 24U-IN (n=3). AME fue medida los días 1-5 post cirugía. **Resultados**: El *%-ret* aumentó solo en ratas NH con Epo-rh i.p. En los animales hipóxicos con Cl_2Co, AME mostró una caída de actividad significativa ($p<0,05$) a día 5 en las ratas no tratadas con Epo-rh. En ambos grupos tratados con Epo-rh se observó: un incremento de AME al día 1 en ratas IN, y un lento declive de AME en ambos grupos, que no mostró cambios signi-ficativos (p=NS) respecto a sus mediciones basales previos a la inyección de Cl_2Co. **Conclusiones:** Los resultados sugieren que la Epo-rh podría tener un efecto protector en el stroke hipóxico-isquémico, siendo la vía IN una nueva alternativa terapéutica a menor dosis y sin efectos colaterales periféricos.

SYMP 22-02

Alteraciones celulares asociadas a la epilepsia farmacorresistente Orozco-Suàrez **S[1]**,Rayo MD[1], García RR[1] González RM[1], Diego Pérez D[3], Ramirez RG[1], Rodríguez JH[1], León E[1], Fraire MI[1,] Proaño NJ[1], Grijalva OI[1], Alonso-Venegas M[2]., Villeda J[2]., Rocha-Arrieta L[3]. Programa Institucional de Cirugía de Epilepsia, del CMN SXXI; IMSS.; Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "M. Velasco Suárez[2,] Farmacología CINVESTAV[3], Unidad Sur". MEXICO.

En el presente trabajo se incluyo a 2 grupos de pacientes candidatos a cirugía por ser refractarios a tratamiento farmacológico; adultos con epilepsia del lóbulo temporal (ELT) e infantes con epilepsia de las denominadas epilepsias catastróficas. El análisis neurocitológico se realizó a nivel de microscopía confocal, microscopía de luz y electrónica. Los resultados mostraron en la población infante un 60 % displasia focales corticales, grandes neuronas displásicas, bizarras y en algunos casos balonadas, gran actividad microglial cortical y perivascular, moderado infiltrado linfocitario, presencia de células neuroectodermicas, con ambos fenotipos neuronales y gliales, perdida de la mielina (hipomielinizaciòn) alteración del endotelio vascular, gran actividad lisosomal y vacuolar y células en proceso necróticos y apoptoticos, sin embargo, buena preservación y distribución de las espinas dendríticas en las células piramidales corticales de los infantes, disminución en la expresión de sinaptofisina, del transportador de glutamato, de GABA. Los resultados muestran que las alteraciones celulares observadas en cada caso nos indica que la farmacorresistencia es un proceso multifactorial, probablemente asociado a la progresión de la enfermedad. Este trabajo fue financiado por el donativo IMSS-2005/1/I/147

SYMP 22-03

Effects of vagal nerve stimulation in the control of pharmacoresistant epilepsy. Mario A. Alonso Vanegas. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía

The place of chronic intermittent vagal nerve stimulation (CIVNS) in the treatment of refractory epilepsy is evolving and has not been precisely defined. We review its efficacy, in terms of seizure reduction and improvement in quality of life (QoL), as well as its security and tolerability in our population. Thirty five refractory epilepsy patients were evaluated holistically, subjected to CIVNS, and followed up regularly (≥12 months) to register seizure frequency and characteristics, adverse effects, on demand use of magnet, stimulation parameters and impact on QoL evaluated by a subjective scale and the QoLIE 31 inventory. All procedures were done under general anesthesia, connecting the VNS to the left cervical vagus nerve. Implantation procedures, wound healing and scarring were unremarkable. Median reduction in seizure frequency was 55.65% ($p<0.001$). Four patients had seizure reduction over 90%, 2 becoming seizure free. Seizure frequency increased in two pataients. The subjectively qualified response was good in 33 patients. Mean global increase in QoLIE-31 was 12.6 ($p=0.020$), an improvement in memory, mood, alertness and postictal recovery period was evidenced When variables as sex, age, age of onset, time of surgery, stimulation parameters, seizure frequency, and seizure type were considered, only seizure type showed a statistically significant association with clinical response. Adverse effects (voice changes, cough) were transitory and responded to changes in stimulation parameters. Only in two patients was it required to suspend stimulation. We had no complications inherently

related to the stimulation device. CIVNS is a safe, feasible, well tolerated and effective palliative treatment for refractory epilepsy in adequately selected partial and multifocal generalized cases. Benefits include reductions in seizure frequency, improvement in QoL and on demand-use of magnet to abort seizures.

SYMP 22-04

Búsqueda de nuevas estrategias para el control de la epilepsia farmacoresistente. Luisa L. Rocha. Depto. Farmacobiología. Cinvestav, Unidad Sur. México, D.F.

La epilepsia es el segundo desorden neurológico más importante después de las cefaleas y representa un problema de salud importante a nivel mundial. En el caso de la epilepsia farmacorresistente, se considera que es un trastorno que conlleva a la búsqueda de nuevas estrategias de tratamiento, entre las que se cuenta a la estimulación eléctrica cerebral. Con respecto a ésta última, se sabe que la aplicación en el hipocampo de estimulación eléctrica de alta frecuencia (130 Hz) puede disminuir la incidencia de crisis epilépticas en pacientes con epilepsia farmacorresistente del lóbulo temporal. La estimulación de alta frecuencia se ha asociado a un incremento del contenido tisular de GABA y su efectividad es mayor en los sujetos que presentan un menor daño neuronal. Evidencias experimentales obtenidas de modelos animales refuerzan la idea de que la estimulación eléctrica de alta frecuencia incrementa la neurotransmisión gabaérgica. Además, es efectiva contra las crisis parciales complejas, pero no contra las generalizadas. Por otra parte, la aplicación aguda de estimulación eléctrica de alta frecuencia en el hipocampo de animales normales incrementa la memoria a corto plazo y no daña la memoria a largo plazo. Las evidencias antes presentadas sustentan que la aplicación de la estimulación eléctrica a alta frecuencia en el hipocampo puede ser una buena alternativa para el control de crisis parciales complejas. Apoyado parcialmente por CONACYT (proyecto 45943-M).

SYMP 23-01

Signaling by melanopsin-containing cells Tida Kumbalasiri[1,2], Ana Maria Castrucci[1], Mauro C. Isoldi[1], Mark D. Rollag[1], and Ignacio Provencio[1, 2]. [1]Department of Biology, University of Virginia, Charlottesville, Virginia, USA. [2]Graduate Program in Neuroscience, Uniformed Services University, Bethesda, Maryland, USA

We have developed several human embryonic kidney cell lines (HEK293) stably expressing human melanopsin, an opsin-based photopigment shown to play a role in multiple forms of non-visual photoreception. We have developed these cell lines to generate sufficient quantities of melanopsin protein for direct biochemical studies on photoactivation. Furthermore, light-induced intracellular increases in calcium within these cell lines are directly related to the irradiance used to stimulate the cells, thereby providing us with an easily quantifiable output to study melanopsin-initiated signaling. Expression of a control melanopsin, where the lysine residue in the predicted seventh tranmembrane domain has been mutated to an alanine, results in no light-induced calcium responses. This lysine is required for covalent linkage of the retinaldehyde chromophore to the opsin protein, therefore, mutating this lysine should result in a functionally null photopigment as was observed. Finally, the increase in intracellular calcium in cells expressing wild-type melanopsin is largely, if not exclusively, derived from the liberation of calcium from intracellular stores. Chelating extracellular calcium had no effect on light-induced calcium responses. This heterologous expression system provides us with a tool to analyze the effects of single nucleotide polymorphisms (SNPs) on the light-absorbing characteristics of melanopsin. Additionally, we can now assess the functional consequences of SNPs on the initiation of melanopsin-based signaling in response to light. This work is supported by the National Institutes of Health (R01 NS052112-05 to I.P.).

SYMP 23-02

Circadian phototransduction and the regulation of biological rhythms in an animal model of blindness. Mario E. Guido[1], Diego J. Valdez,[1] Paula S. Nieto,[1] Eduardo Garbarino-Pico,[1] Lucia B. Avalle,[2] Hugo Díaz-Fajreldines,[3] Kimberley Cheng,[4]. [1]CIQUIBIC-Dpto de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas, Univ. Nac. de Córdoba, Córdoba, Argentina; [2] Facultad de Matemáticas, Astronomía y Física, Univ. Nac. de Córdoba, Córdoba, Argentina; [3] Instituto de Neurociencias, Córdoba, Argentina; [4] Univ. British Columbia, Vancouver, Canada.

In mammals, a non-image forming (NIF) circuitry conveys photic information from the retina to the brain regulating a number of non-visual functions. In birds, the retina and pineal gland are photoreceptive. GUCY1* chickens that suffer photoreceptor cell (PRC) degeneration and blindness at hatch, constitute an useful model to study light perception without functional PRCs. In these birds, we assessed the consensual pupillary light reflex (PLR) to different monochromatic lights and the synchronization of feeding rhythms to various 12:12 h light-dark (LD) cycles with white and blue light of different irradiances. GUCY1* chickens are clinically blind as null electroretinogram recordings were obtained in response to bright light. However, they displayed detectable light responses in both the PLR and the entrainment of feeding rhythms. Birds bearing the occlusion of their pineal gland and deep brain, exhibited strong daily rhythms in food intake which were tightly entrained to diverse LD cycle schedules as sighted controls. Under scotopic conditions, GUCY1* chicks displayed measurable PLRs to white and monochromatic light of 430, 480 and 500 nm, but no responses were seen at 600 nm. Remarkably, only at 480 nm, low light intensity levels (100 lux) elicited a PLR similar to that at maximal irradiance (5000 lux), resembling a vitamin A-based melanopsin-like photopigment. The

results indicate that in birds, photoperception occurs even in the absence of classical PRCs, and pineal gland/encephalic occlusion, through a mechanism involving the inner retina and the NIF pathway.

SYMP 23-03

Signal Transduction Pathways Underlying Photic Entrainment of the SCN Clock. Hai-Ying Mary Cheng* and Karl Obrietan. Dept. of Neurosciences. Ohio State University, USA.

In mammals, circadian rhythms of behaviour and physiology are governed by a master biological clock situated in the suprachiasmatic nuclei (SCN) of the hypothalamus. The SCN not only functions autonomously to generate near 24-hr oscillations, but it can be regulated by changes in the environmental light cycle, thereby allowing an organism to synchronize its internal clock with daily or seasonal changes in lighting conditions. The intracellular signaling events that underlie entrainment of the SCN clock by light have been extensively studied in our laboratory. Evidence points to an essential role of the p42/p44 mitogen-activated protein kinase (MAPK) signal transduction pathway in coupling light to entrainment of the SCN clock: immediate early gene expression, activation of the CREB/CRE transcriptional pathway and behavioural resetting all require functionality of the p42/p44 MAPK cascade. More recently, our laboratory has implicated downstream targets of p42/p44 in clock timing processes. The activity of RSK1, a member of the 90 kDa ribosomal S6 kinase (RSK) family, is both light- and clock-regulated within the SCN in a phase-restricted manner. Activation of MSK1, or mitogen and stress-activated protein kinase 1, is observed following nighttime light exposure, is dependent on PACAP-mediated signaling, and couples to mPer1 induction in vitro via a CREB/CRE-dependent mechanism. In addition to downstream effectors, upstream regulators of the p42/p44 MAPK pathway are likely to participate in processes of clock entrainment. Notably, in genetic deletion studies, Dexras1, a Ras-like G protein, Dexras1, has been shown to play a critical role in modulating the responsiveness of the SCN clock to photic as well as non-photic inputs. Dexras1 is a convergence point for various receptor-mediated signaling events that underlie entrianment, and regulates SCN responses to different stimuli through its pleiotropic effects on p42/p44 MAPK signaling.

SYMP 23-04

Circadian Synchronization: How light signaling pathways engage the molecular clockwork. Martha Gillette, Department of Cell & Developmental Biology and Neuroscience Program, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801.

The circadian clock in the suprachiasmatic nucleus (SCN) comprises a dynamic, tightly-controlled cycle of cellular events that repeats roughly every 24 hours. Environmental light synchronizes the clock and physiological functions it coordinates to the day/night cycle. Effects of signals from the eye to the clock depend upon clock state. In the early night, light/glutamate (GLU) signals communicate that day has been under-estimated and delay clock state. Conversely, in late night the appearance of light signals early dawn, advancing the clock. At both times, NMDA•R-nitric oxide (NO) are initial signaling elements. SCN signaling pathways diverge downstream of NO. Delays in circadian clock phase result from NO action on neuronal ryanodine receptors (RyR), which releases stored Ca2+i. During late circadian night, NMDA•R/NO activation targets guanylyl cyclase-cGMP-protein kinase G and IP3. Thus, the clock is differentially sensitive to signals with different spatial and temporal Ca2+dynamics that move clock state in opposite directions. In early night, RyR-regulated Ca2+i fluxes alter the actin cytoskeleton. Cytoskeletal actin filaments (F-actin) are dynamic structures that form submembranous networks interacting with cell surface receptors, channels and intracellular effectors. F-actin is involved in cell migration and neuronal plasiticity. GLU induces transient F-actin depolymerization in the SCN at this time, which alters cellular localization of a key clock protein. This process is necessary to delay the clock. In late night, activation of PKG leads to phosphorylation of transcriptional regulators of clock genes, including those binding to CRE and E-box sites. Together, our results indicate that light/glutamate signaling pathways downstream from NO are regulated dynamically by the SCN clock. This ensures that their activation appropriately matches time-of-day, engaging the molecular clockwork to respond adaptively to environmental and organismic change. Supported by USPHS.

SYMP 24-01

Role of the female sex steroids on the medial amygdala neuronal and glial morphology. Alberto Rasia-Filho, Dept. Physiological Sciences, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas and Postgraduation in Neuroscience, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

The medial amygdala (composed by four subnuclei) is a sexually dimorphic brain area that presents receptors for gonadal hormones. In female rats, neuronal somatic volume changes across the estrous cycle, dendritic branches have a characteristic spatial orientation throughout the nucleus, dendritic spine density is affected by normal cyclic variations in sex steroids and also by motherhood or ovariectomy and hormonal substitutive therapy. Finally, circulating estrogen and progesterone modify the immunoreactivity for the astrocytic component glial fibrillary acidic protein (GFAP). This plasticity in the neuronal and glial morphology can be involved with the neuroendocrine control of hypothalamic hormones secretion and the occurrence of several behaviors in females.

SYMP 24-02

Mechanisms of estradiol-mediated protection in neurodegenerative diseases. Alejandro F. De Nicola, L. Pietranera, J. Beauquis, Y. Revsin, F.

Saravia, Instituto de Biología y Medicina Experimental, Depto. Bioquímica Humana, Facultad de Medicina, Univ. De Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.

In the brain, steroid hormones exert pleiotropic effects under normal and pathological conditions. In the latter case, estrogens are linked to neuroprotection, whereas excess adrenal steroids increase hippocampal neuropathology. Data obtained in animal models of aging, diabetes mellitus, genetic (SHR) and mineralocorticoid hypertension, demonstrated hippocampal abnormalities and changes of adrenal steroid function pointing to a glucocorticoid or mineralocorticoid overdrive. This overdrive may enhance hippocampal abnormalities in the four disease models, which included: a) decreased progenitor proliferation in the subgranular zone (SGZ) of the dentate gyrus; b) astroglial reactivity, with increased expression of the glial fibrillary acidic protein (GFAP); c) decreased neuronal density in the hilus of the dentate gyrus. Changes were reversible by treatment with estrogens – prototype neuroprotective hormones – which ameliorated the hippocampal parameters. Thus, in middle age mice and rodent models of diabetes and hypertension, estradiol treatment stimulated progenitor proliferation in the SGZ, normalized the density of GFAP+ astrocytes, and recovered hilar cell number. The marked neuroprotective effects of estrogens on hippocampal markers supports that sex steroid hormones play an important role in the susceptibility to neurodegenerative diseases. (Supported by BID 1728 OC AR PICT 2004 25610, CONICET PIP 5542, Roemmers Foundation and the University of Buenos Aires M022).

SYMP 24-03

Participación del estradiol y de la progesterona en la regulación de proteínas del citoesqueleto en el hipocampo de la rata y su importancia en la modulación de la plasticidad neuronal. Ignacio Camacho-Arroyo, Andrea Reyna-Neyra, Octavio Mercado-Gómez, Cintia Lojero y Clorinda Arias. Departamento de Biología, Facultad de Química y Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F., México.

El estradiol (E2) y la progesterona (P4) participan en la regulación de diversas funciones en el Sistema Nervios Central entre las que están la plasticidad neuronal y la neuroprotección. Estas funciones involucran cambios en las neuronas y en las células gliales que requieren la participación de diversas proteínas del citoesqueleto. En nuestro grupo hemos analizado el contenido y la distribución de proteínas asociadas a los microtúbulos, MAP2 y Tau, que se localizan en dendritas y axones respectivamente y de la proteína GFAP, presente en células gliales en el hipocampo de la rata tanto en animales ovariectomizados tratados con E2 y P4 como durante el ciclo estral donde cambian los niveles de estas hormonas de manera fisiológica. Nuestros resultados indican que el E2 y la P4 incrementan el contenido de MAP2 sin cambios en Tau. Durante el ciclo estral observamos que el menor contenido de MAP2 y GFAP se encontró durante el diestro, incrementándose en proestro cuando son mayores los niveles de E2 y P4. En esta etapa se observó también un incremento en el grosor de las dendritas y en su arborización en la región CA-1 del hipocampo. Estos datos sugieren que los efectos del E2 y la P4 en la plasticidad neuronal están mediados en parte por cambios en la expresión de proteínas del citoesqueleto tanto neuronales como gliales. Apoyado por PAPIIT (IN220505), DGAPA, UNAM, México.

SYMP 24-04

La ausencia de esteroides gonadales y su repercusión sobre el efecto de dos agentes ansiolíticos. Ofir Picazo, Antonio Vega-Rosales, Judith Espinosa. Escuela Superior de Medicina del I.P.N. México D.F. México.

Este estudio analiza los efectos a largo plazo de la ovariectomía sobre la ansiedad y la depresión basal de las ratas asi como la influencia de esta condición fisiológica sobre las propiedades farmacológicas de dos ansiolíticos y dos antidepresivos. Se utilizaron ratas ovariectomizadas previamente (3, 6 y 12 semanas antes) y se evaluaron en el modelo de la conducta defensiva de enterramiento. Los valores más altos de la conducta de enterramiento se observaron en el grupo de 12 semanas en comparación con el grupo de 3 semanas, sin alteración de la actividad espontánea. Estos datos indican que las ratas con un tiempo mayor de ausencia hormonal son más ansiosas. Otras ratas previamente ovariectomizadas (3 y 12 semanas antes) fueron usadas para ensayar el efecto de los fármacos ansiolíticos; el diazepam, a todas las dosis probadas, indujo una disminución de la conducta de enterramiento similar en los dos grupos estudiados. Contrariamente, el grupo de 12 semanas fue más responsivo a los efectos tranquilizantes del 8-OH-DPAT. Similar al primer experimento, las ratas ovariectomizadas se evaluaron en el modelo del nado forzado. No se encontraron diferencias conductuales que reflejaran cambios de la depresión basal entre los 3 grupos estudiados de ratas. Sin embargo, se encontró que las ratas ovariectomizadas 12 semanas antes, fueron más sensibles a los efectos antidepresivos de la fluoxetina. En contraste, el efecto de la desimipramina fue mayor desde la dosis baja en el grupo de 3 semanas. Los presentes resultados subrayan la prometedora utilidad de la ovariectomía a largo plazo como un modelo experimental válido para el estudio de los desórdenes psicológicos inherentes a la postmenopausia humana. Agradecimientos: SIP-IPN y COFAA

SYMP 25-01

Mecanismos implicados en el desarrollo del síndrome metabólico. Papel del sistem renina-angiotensina. Victoria Cachofeiro, Dpto. Fisiología, Fac. Medicina, Univ. Complutense de Madrid, España.

El síndrome metabólico se caracteriza por la asociación de una serie de alteraciones que incluyen entre otras:

obesidad, resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia, niveles bajos de HDL-colesterol, elevación de los niveles de presión arterial, así como un estado protrombótico y proinflamatorio. Todas estas alteraciones generan una situación de daño vascular constante y progresivo que favorece el desarrollo aterosclerótico y en consecuencia, la aparición de accidentes cardiovasculares. Aunque la enfermedad cardiovascular es la consecuencia clínica principal, la mayor parte de pacientes con síndrome metabólico presentan resistencia a la insulina, lo que aumenta el riesgo de desarrollo de diabetes tipo 2. La presencia de diabetes aumenta aún más el riesgo de sufrir un accidente cardiovascular en estos pacientes. Diversos mecanismos están involucrados en el desarrollo del daño vascular, entre ellos hay que destacar la disfunción endotelial, el estrés oxidativo y el proceso inflamatorio. Entre los factores que participan en la disfunción endotelial asociada al síndrome metabólico podemos mencionar un aumento de ácidos grasos libres, de factores producidos por el tejido adiposo (adipoquinas), de angiotensina II, así como la hiperglucemia postpandrial. La angiotensina II uno de los principales factores vasoactivos involucrados en el desarrollo de la enfermedad vascular y en la aparición de accidentes cardiovasculares a través, entre otros mecanismos, de su efecto vasoconstrictor, prooxidante y proinflamatorio Asimismo, el bloqueo del sistema renina-angiotensina mejora la resistencia a la insulina tanto en pacientes con síndrome metabólico como en modelos experimentales, sugiriendo la participación de la angiotensina II en este proceso. En resumen, numerosos factores participan en el desarrollo y complicaciones del síndrome metabólico, entre ellos hay que destacar el papel de la angiotenina II.

SYMP 25-02
Abstract not available.

SYMP 25-03
Trastornos del sueño y síndrome metabólico ¿un vínculo causal? Daniel P. Cardinali. Depto de Fisiología, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

El conjunto de obesidad visceral, hipertensión arterial, hiperglucemia, hiperinsulinemia y dislipidemia es hoy reconocido como una entidad fisiopatológica única, o "Síndrome Metabólico". Su incidencia es muy elevada y responde entre otras causas a los dramáticos cambios que durante el último siglo ha experimentado el estilo de vida. La comida se ha vuelto abundante, la ingesta es arrítmica y ha tendido a predominar hacia el fin del día, la necesidad para el esfuerzo físico se redujo y la actividad física no necesita ya coincidir con el período diurno de luz. Como resultado, las señales internas y ambientales relevadas por el cerebro han perdido ritmicidad. Desde una perspectiva evolutiva, ésta es una verdadera "mutación ambiental". En un trabajo en áreas urbanas de Buenos Aires, San Pablo y México hemos podido verificar que: (a) 65% de la población, independiente de la edad, ha experimentado trastornos del sueño en los últimos 12 meses. (b) 40 % de estos trastornos fueron moderados a graves. (c) Ante la pregunta sobre las horas efectivamente dormidas y las deseadas se detectó una deuda de sueño de unas 2 horas diarias. Es claro que el sueño insuficiente y la somnolencia diaria excesiva conducen a una salud psicofísica disminuida. Pero sobre todo se pierde el equilibrio entre las tres diferentes configuraciones de regulación autonómica de órganos y sistemas ("tres cuerpos") en que transcurre nuestra vida: la vigilia, donde predomina el sistema autónomo simpático que nos mantiene en la lucha cotidiana a expensas de un importante consumo energético, el sueño de ondas lentas, de predominio parasimpático, con asimilación de energía e inmunidad contra virus y cáncer aumentadas, y el sueño de movimientos oculares rápidos, el sueño del soñar, que asegura nuestra identidad e historia personales. Se analizará en este presentación en qué forma el uso de manipulaciones cronobiológicas (luz, melatonina) permiten mantener la secuencia normal diaria de estas tres configuraciones corporales, que pueden considerarse como la quintaesencia del estado de salud.

SYMP 25-04
Glutamato monosodico: nuevo modelo de obesidad. JAF Tresguerres, C Ariznavarreta, M Hermanussen* Depto Fisiología Fac de Medicina Univ Complutense, Univ Kiel Alemania*

Hemos analizado el efecto que la administración de Glutamato Monosodico (MSG) oral tiene sobre los mecanismos implicados en el control del apetito y la repercusion generales en el peso y composición corporal. Se administra MSG con la comida a ratas gestantes primero,lactantes después, y despues del destete hasta los 6 meses de edad. Otro grupo recibe MSG parenteral a ratas neonatales. Se midió el peso y el consumo de alimento semanalmente. Un tercio de las crías se sacrificaron al mes de edad, otro a los 3 meses y el resto a los 6. Se pesó la grasa peritoneal, periuterina y peritesticular y se obtuvieron muestras de sangre en el momento del sacrificio para la medida plasmática de GH, IGF1, LH, leptina e insulina. Se analizó el efecto sobre el sistema nervioso central. La administración de MSG da lugar a lesiones en el núcleo arcuato que son máximas para el grupo con administración parenteral y para las administraciones orales a las dosis más altas. Estas lesiones coinciden con una disminución de los receptores para leptina y un aumento del gen del NPY. Todas las ratas tratadas presentan niveles plasmáticos significativamente menores de GH, IGF1,LH leptina e insulina comparados con los controles y presentan un marcado incremento en el consumo de alimentos y agua. Los animales presentan un retraso en su crecimiento por el déficit de GH, pero tiene un mayor componente de tejido graso. En los animales adultos, si se añade MSG a una dieta estandar se incrementa el consumo de alimento y se producen alteraciones en los parámetros nutricionales y endocrinos. Las alteraciones son menos evidentes que cuando se comienzan los tratamientos pre o perinatalmente. Se ha investigado la posibilidad de interferir dichas acciones utilizando un

antagonista no competitivo (memantine)del receptor NMDA a través del cual actúa el glutamato. El memantine bloquea el incremento de consumo de alimento y el aumento de peso en todos los animales.

SYMP SH1-01
Abstract not available.

SYMP SH1-02
Mechanisms of redox processes underlying vascular response to injury. Francisco R. M. Laurindo - Heart Institute (InCor), Un. São Paulo School Med., Brazil
Vascular repair is a model of pathophysiological adaptations to disease. We provide evidences that redox processes play a prominent regulatory role in such reaction and discuss related cellular/molecular redox mechanisms. Massive superoxide production peaks immediately after balloon injury, in direct correlation with apoptosis and NF-kappaB activation. In the late stage of vessel repair, there is sustained low-level increase in superoxide, particularly in the neointima. Moreover, SOD activity shows sustained decrease, together with marked 3-nitrotyrosine staining. Extracellular SOD replenishment abrogates vascular constrictive remodeling, without changes in neointima, and rescues bioactive NO from iNOS. Vascular NADPH oxidase is activated throughout all phases of vascular response, with Nox1 isoform predominating early and both Nox1 and Nox4 at late repair. We recently showed that protein disulfide isomerase (PDI), an endoplasmic reticulum (ER) redox chaperone, interacts with Nox isoforms and closely regulates their activation secondary to angiotensin II in vascular smooth muscle cells (VSMC). We postulated that PDI/NADPH oxidase interaction is a pathway bridging the ER stress cascade to oxidative stress. In fact, ER stressors upregulate NADPH oxidase activity in VSMC and enhance Nox4 expression. Loss or gain-of-function experiments further support the involvement of PDI in such response. PDI as well as ER stress markers such as Grp78, Grp94 and calreticulin are markedly upregulated during vascular repair, mainly in neointima. Thus, oxidative stress in the neointima may occur in the context of an integrated stress response involving ER stress signaling, PDI and NADPH oxidase. We recently developed techniques for long-term neointimal cell culture from rabbit iliac vessels (6-7 passages). Such cells sustain a marked increase vs. normal in basal and angiotensin-II-stimulated NADPH oxidase activation and superoxide production. Improved understanding of redox pathophysiology of vascular repair is a basis for more rational approaches towards therapeutic interventions.

SYMP SH1-03
FAK signaling in cardiac myocytes: mediator of mechanical stress. Kleber G. Franchini. Depto de Clínica Médica, Fac Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.
Our studies are focused on the mechanical stress as a major pathogenetic factor for cardiac hypertrophy and failure. Cardiac hypertrophy is initially a compensatory response to hemodynamic overload, but the continuous impact of mechanical stress on myocardium set the stage for the latter progression of heart failure. FAK (Focal Adhesion Kinase) is a central element in the signaling pathways activated by mechanical stress in cardiac myocytes. Studies performed in distinct models (e.g. intact left ventricle, isolated rat heart and isolated neonatal rat ventricular myocytes) unraveled the importance of FAK to the regulation of early gene transcription as well as the left ventricle hypertrophic growth in response to mechanical stress. Our recent studies performed in mice that underwent cardiac FAK knockdown by RNA interference indicate that FAK not only is critical for the hypertrophic responses induced by mechanical stress but also that its chronic activation contributes to the progressive functional deterioration of the hypertrophic hearts. Several mechanisms have been suspected to be responsible for the progressive deterioration of the hypertrophic hearts, including calcium metabolism disorder, neurohumoral maladaptive response, necrosis and apoptosis of cardiac myocytes. Studies been conducted in our laboratory explore the involvement of chronically activated FAK in signaling mechanisms involved in 1) the expression of calcium handling proteins, and 2) in the mitochondriogenesis in cardiac myocytes.

SYMP SH1-04
Cell therapies for cardiac diseases: where are we headed. Antonio C. Campos de Carvalho. Instituto Nacional de Cardiologia Laranjeiras e Universidade Federal Do Rio de Janeiro, Brazil.
Cell therapies are being investigated as an alternative for the treatment of various cardiac disorders. We developed animal models of myocardial ischemia as well as of chagasic cardiomyopathy to investigate the use of bone marrow derived cells in treating these disorders. Based on the positive results obtained in the animal models we have obtained authorization from the National Ethics Committee in Brazil to run phase I clinical trials investigating the safety and feasibility of using autologous mononuclear cells derived from bone marrow in acute myocardial infarction (AMI) and in chagasic, dilated and post-ischemic heart failure. The phase I trials have been completed and since no adverse effects were associated to the procedure, we were authorized to start a phase II/III clinical trial to investigate the efficacy of the autologous cell therapy in four cardiopathies: chronic ischemic heart disease, acute myocardial infarction, dilated cardiomyopathy and chagasic cardiomyopathy. The results from the phase I trials will be presented as well as the design of the phase II/III trial, that is still recruiting patients.

SYMP SH2-01
A transverse tubule NADPH oxidase modulates calcium release in skeletal muscle. Cecilia Hi-

dalgo*, Gina Sánchez, Genaro Barrientos and Paula Aracena-Parks, Centro FONDAP de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, Universidad de Chile; *Programa de Biología Celular y Molecular, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago, Chile.

The transverse tubules of mammalian skeletal muscle possess a NADPH oxidase (NOX) activity, as established by a variety of criteria. In adult mice fibers, immuno-histochemical determinations with NOX antibodies showed that the membrane gp91^{phox} subunit and the cytoplasmic regulatory p47^{phox} subunit co-localized in transverse tubules with the α_{1s} subunit of dihydropyridine receptors. Western blot analysis revealed that isolated triads contained the integral membrane subunits gp91^{phox} and p22^{phox}, which were markedly enriched in isolated transverse tubules but absent from isolated junctional sarcoplasmic reticulum vesicles. Likewise, isolated triads and transverse tubules, but not junctional sarcoplasmic reticulum, also contained varying amounts of the cytoplasmic NOX regulatory subunits p47^{phox} and p67^{phox}. NADPH or NADH elicited superoxide anion and hydrogen peroxide generation by isolated triads; both activities were inhibited by NOX inhibitors but not by rotenone. NADH diminished the total thiol content of triads by a third; catalase or apocynin, a NOX inhibitor, prevented this effect. NADPH enhanced the activity of Ryanodine receptor type 1 (RyR1) in triads, measured through [^{3}H]-Ryanodine binding, stimulated calcium release kinetics and increased about 2-fold RyR1 *S*-glutathionylation over basal levels. Preincubation with reducing agents or NOX inhibitors abolished the enhancement of RyR1 activity produced by NADPH and prevented NADPH-induced RyR1 *S*-glutathionylation. We propose that reactive oxygen species generated by the transverse tubule NOX activate the neighboring RyR1 Ca^{2+} release channels *via* redox modification of cysteine residues. Supported by FONDAP grant 15010006.

SYMP SH2-02

Calcium signaling in vascular and other smooth muscles. Susan Wray, Clodagh Prendergast, Ludmylla Borisova Ted Burdyga and John Quayle. Department of Physiology, University of Liverpool, Liverpool L69 3BX, UK.

Changes in intracellular [Ca] are known to be critically important for vascular tone, but the mechanisms controlling [Ca} and signaling are still being elucidated. The rise in [Ca] depends upon increased Ca entry and release of Ca from the sarcoplasmic reticulum (SR). Ca exit on Ca-ATPase and NCX, along with re-uptake into the SR govern relaxation. While changes in membrane potential are the chief determinant of Ca entry, the role of the SR in affecting both excitability and Ca signaling are more recently being appreciated. Ca-activated K channels appear to be expressed in all smooth muscle tissues, especially those with a large conductance, known as BK channels. Activation of these channels will tend to hyperpolarize the membrane and thereby reduce Ca entry and promote decreases in tone. However there are also Ca-activated Cl channels in several smooth muscles and their activation promotes excitability via depolarization of the membrane. Both these Ca-activated channels respond to local Ca release form the SR, Ca sparks and puffs, hence its link to excitability. We have also recently shown that the refractory period is set by SR Ca levels, affecting SR Ca releases (sparks) and BK channel activity; thus the SR Ca signals also govern global Ca signals. In vascular smooth muscle signaling to and from endothelial cells will also affect excitability and vessel tone. In this presentation I will present data showing the interactions between the SR Ca signals and smooth muscle activity and Ca signaling *in situ* in endothelial and vascular cells. I will also discuss differences between large and small vessels and compare data obtained in vascular smooth muscle to recent findings in other smooth muscle tissues, to help understand which processes are generic to activity and regulation and which are specific to vascular function.

SYMP SH2-03

Sparks evoked by cardiac action potentials are synchronized by the Na current and Na-Ca exchange: Studies on the function of couplons. John Bridge, Eleonora Savio, [1]Joshua Goldhaber, Christopher Davidson and Frank Sachse. The Nora Eccles Cardiovascular Research and Training Center, University of UT, USA and [1]The Cardiovascular Research Laboratories, David Geffen School of Medicine at UCLA, Los Angeles, CA, USA

In rabbit, couplons consist of clusters of ryanodine receptors on the terminal cisternae of the SR and clusters of L type Ca channels in the sarcolemmal t-tubules. These channels are apposed to one another across a junction of approximately 15 nm. The couplon contains other essential proteins for EC coupling and quite possibly Na channels and Na-Ca exchangers (NCX). We investigated the hypothesis that in addition to L- type Ca current, Na current activated NCX is required to trigger sparks with a high probability and synchronicity. Action potentials and Ca transients were recorded with confocal microscopy from isolated rabbit cells dialyzed with Fluo-4 and nominally zero Na. Cells were then superfused for 30 seconds in a modified Tyrode solution containing Li instead of Na. We evoked normal action potentials and observed slower Ca transients of lower magnitude. We investigated the microscopic basis for this by conducting similar experiments with pipettes containing zero Na and an EGTA, designed to resolve sparks. In the presence of superfusing Na, sparks occurred at high probability and low latency. In the presence of Li spark probability was reduced while latency was increased. We conclude that the Na current is sufficient to stimulate reverse NCX, which primes the junction with Ca. This potentiates triggering by Ca current, thus sparks appear at higher probability and in a more synchronized fashion suggesting that NCX is essential

for synchronizing sparks. (Recent 3D reconstruction of t-tubules with high-resolution confocal microscopy revealed possible junctional regions along the t tubules. These may serve as geometric markers for co-localization studies of the Ca and Na pathways essential for triggering within a couplon that we have described.)

SYMP SH2-04

Ca^{2+}/calmodulin dependent protein kinase: a key component in the contractile recovery from acidosis. Alicia Mattiazzi. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas,60 y 120 (1900), La Plata, Argentina.

Intracellular acidosis exerts substantial effects on the contractile performance of the heart. Soon after the acidosis is settled, contractility diminishes largely due to a decrease in myofilament Ca^{2+} responsiveness. This decrease in contractility is followed by a progressive recovery that occurs despite the persistent acidosis. This recovery is the result of different mechanisms that converge into the increase in intracellular Ca^{2+} (Ca^{2+}_i). Experimental evidence in the last few years indicates that, activation of the Ca^{2+}-calmodulin-dependent protein kinase (CaMKII) is the necessary link between the increase in Ca^{2+}_i and the contractile recovery. CaMKII would act as an amplifier mechanism providing compensatory pathways for the inhibitory effects that acidosis produced on most of the Ca^{2+} handling proteins. CaMKII phosphorylation of the SERCA2a regulatory protein, phospholamban, by promoting an increase in sarcoplasmic reticulum (SR) Ca^{2+}-uptake and SR Ca^{2+} load, emerges as a good candidate responsible for the contractile recovery. Thus, activation of CaMKII appears as a potential target to overcome the depressant contractile effect of acidosis, which is a major component of myocardial ischemia.

POSTER PRESENTATION

POS 01
Fisiología y fisiopatología cardiovascular
Cardiovascular Physiology and Physiopathology

POS 01-01

Cardio-vascular function in the South American lungfish, *Lepidosiren paradoxa:* Shunts evaluated by the hyperoxia method. Mirian Bassi, Humberto Giusti, Mogens Lesner Glass, Lab. Respiratory Physiology, Depto of Physiology, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Brazil.

Lungfish are probably the closest relatives to the land vertebrates (Tetrapoda), and recent studies document a number of common features concerning the components of ventilatory control. Lungfish have a complicated vascular system, which motivated us to evaluate cardiovascular shunts in *L. paradoxa*, using the hyperoxia method. The animals (n=6) were catheterized (dorsal aorta) to measure blood gases, after which they recovered for 24 h in normoxic water. Subsequently, we applied gas phase hyperoxia (50%) combined with normoxic water for 2 h which increased dorsal aortic PO_2 from 81 ± 2 mmHg to 114 ± 3 mmHg; mean ± SEM; n = 6. After 24 h recovery, we exposed the animal to aquatic hyperoxia (50%) combined with air, which caused a greater increase of dorsal aortic PO_2 (75 ± 4 mmHg to 147 ±11 mmHg), but had a marginal impact on acid-base status. The larger effect of aquatic hyperoxia may reflect an elimination of minor shunts within the rudimentary gill system of *L. paradoxa*. The results indicate an absence of the central shunts that characterize amphibians and reptiles.

POS 01-02

Effects of ryanodine and verapamil on the post-rest pontraction of reminiscent myocardium from rats with heart failure. Danilo Sales Bocalini; Leonardo dos Santos; Ednei Luis Antonio; Alexandra Alberta dos Santos; Andrea Rodrigues da Costa; Paulo J. F. Tucci. Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardíacas, Universidade Federal de São Paulo, Brasil.

Introduction: Myocardial infarction (MI) often leads to myocardial dysfunction and heart failure. Our aim was to study the sarcoplasmic reticulum (SR) function analyzing post-rest contraction (PRC) behavior in papillary muscles from control and infarcted rats. **Methods:** Six weeks after coronary occlusion, MI size (MIS) and ventricular function were evaluated by echocardiography, and papillary muscles were obtained from sham-operated (C, n=11) and infarcted (MI, n=8) Wistar rats. PRC were obtained at rest intervals of 5, 15 and 30s before and after membrane Ca channel (verapamil, 0.1μM) or RS blockade (ryanodine, 1μM) and were normalized (ratio) by steady state contraction. **Results:** MIS was 45±2%. After MI, left ventricle fractional shortening was impaired (MI: 22±2 vs C: 43±2%) and left ventricular end diastolic volume was elevated (MI: 0.40±0.03 vs C: 0.15±0.01 mL). There were also impairment of contraction and relaxation of papillary muscles: developed tension (C: 0.94±0.07 vs MI: 0.61±0.09 g/mg), +dT/dt (C: 10.9±0.8 vs MI: 7.1±1.5g/mg/s), -dT/dt (C: -6.6±0.7 vs MI: -3.9±0.5g/mg/s), and time to 50% of relaxation (C: 138±8 vs MI: 200±7ms). Resting tensions were not different between groups. Post-rest contractions were depressed in MI whereas normal post-rest stimulation was reported by C. Indeed, normalized PRC was higher than 1 in C and lower than 1 in MI: 5" (C:1.11±0.02 vs MI:0.82± 0.1), 15" (C:1.20±0.03 vs MI:0.77±0.09) and 30" of rest (C:1.28±0.07 vs MI:0.6±0.12). After ryanodine PRC contractile changes disappeared in C and MI, and verapamil do not significantly abolished it, denoting the RS origin of PRC. **Conclusion:** Six weeks after coronary occlusion PRC is depressed in the reminiscent myocardium, strengthening the concept of sarcoplasmic reticulum dysfunction in advance of rat myocardial remodeling. **Financial support**: Unifesp, Fapesp, CAPES and CNPq.

POS 01-03

Efectos de la vagotomía y del bloqueo farmacológico sobre la frecuencia cardiaca en Bufo arenarum (Annura, Bufonidae) durante la sumersión. Lilian Castillo[1]; Enrique Rodríguez[2] y Claudio Cervino[1]. [1]Fac. de Medicina-UM. Cabildo 134, (1708) Morón. Pcia. Bs. Aires. Argentina ccervino@unimoron.edu.ar [2]DBBE-FCEyN-UBA. Cdad. Universitaria, Pab. II, 1428. Buenos Aires, Argentina.

Durante la sumersión, los anuros desarrollan cambios de la frecuencia cardiaca (FC) y de la presión arterial (PA), ajustando su fisiología a esta condición ambiental. Se postula que el SNA es el encargado de controlar la variación de ambos parámetros fisiológicos. En este trabajo se investiga en *Bufo arenarum* el papel de los distin-

tos componentes del SNA durante la sumersión forzada. Se utilizaron sapos adultos (n=32), aclimatados y agua *ad libitum*. Se registró la FC, realizándose registros en aire y a distintos tiempos de sumersión (hasta 40 min) y emersión. Dispositivo de sumersión: pecera (15 L) con intercambio continuo de agua constantemente aireada (temperatura 21±1°C); seguimiento del comportamiento del animal por observación directa. Bloqueo farmacológico: sulfato de atropina al 1% (dosis 3,0 mg/kg), fentolamina (dosis 10,0 mg/kg) y propranolol (dosis 6,0 mg/kg) fueron utilizadas selectivamente para bloquear la inervación colinérgica, α-adrenérgica y β-adrenérgica, respectivamente. Vagotomía (VGX) bilateral: por procedimiento quirúrgico se seccionaron ambos nervios vago. Se realizaron controles de vehículo y quirúrgicos; los datos se analizaron estadísticamente. Se observó que tanto para los bloqueos farmacológicos adrenérgicos y colinérgicos, como para la VGX bilateral los animales desarrollan bradicardia. Solo en el grupo tratado con fentolamina se obtuvieron diferencias significativas con respecto a los valores de FC control. Se discuten los resultados a partir de los bloqueos farmacológicos de ambos componentes del SNA y de la VGX bilateral, durante la sumersión, concluyéndose que existen mecanismos independientes de la actividad vagal que producen y mantienen la bradicardia durante dicha situación experimental.

POS 01-04

Comparação da freqüência cardíaca máxima (FC_{max}) de acordo com diferentes metodologias. Leandro Q. Corrêa, Carlos Marcelo C. Moreno, Ana Cristina Kalb, Airton José Rombaldi, Lab. de Bioquímica e Fisiologia do Exercício, ESEF, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

A FC_{max} predita pela idade tem sido uma das variáveis mais usadas como controle em clínicas de medicina e fisiologia, provavelmente, pela praticidade do procedimento. Além de empregada para apontar o limite máximo de testes de esforço, a FC_{max} prevista desta maneira, também é utilizada para a prescrição de intensidade do exercício, tanto em programas de reabilitação como de prevenção de doenças, sendo que ela não representa a melhor maneira de se prescrever exercícios, principalmente para sujeitos saudáveis. Assim, comparamos os valores desta equação tradicional (220-idade) de FOX & HASKELL. (1970) e da (208-0,7 x idade), proposta por TANAKA et al. (2001), com os valores de FC_{max} encontrados ao final dos testes de VO_{2max} realizados em nosso laboratório. A população do estudo consistiu de sujeitos que realizaram seus testes e foram incluídos em nosso banco de dados, no período de 2005 a 2006. Fizeram parte da amostra 25 mulheres e 46 homens, com idades médias de 21,7±5,5 e 21,8±5,9 anos para mulheres e homens, respectivamente. No geral, a idade foi 23,64±7,1 anos. O VO_{2max} médio da amostra foi de 45,08±10,22 $mL.kg^{-1}.min^{-1}$. A analise dos dados mostrou que 88% das mulheres e 65,2% dos homens apresentaram FC_{max} do teste mais próximas em batimentos por minuto da equação de Tanaka quando comparada com a tradicional. Quando utilizamos a ANOVA, encontramos diferenças significativas entre a FC_{max} do teste comparada com a FC_{max} predita pela equação 220-idade ($p = 0,000002$), e também quando comparou-se a FC_{max} predita pela equação de TANAKA com a tradicional ($p<0,00000$). A média da FC_{max} dos testes foi 191,4±9,5 bpm; já a da equação tradicional e a de TANAKA foram 198,2±6 e 192,7±4 bpm, respectivamente), levando-nos a concluir que para nossa amostra a equação de TANAKA mostrou-se mais próxima da realidade.

POS 01-05

Oxygen hyperbaric therapy during first hour of coronary artery occlusion reduces myocardial infarction size in rats. Leonardo dos Santos; Ednei Luis Antonio; Andrey Jorge Serra; Harry Hull; Paulo J. F. Tucci. Laboratório de Fisiologia e Fisiopatologia Cardíacas, Universidade Federal de São Paulo, Brasil.

Introduction: Myocardial Infarction (MI) plays major hole in cardiovascular-related death. Since oxygen (O_2) lack is critical in ischemia, increasing its supply to injured heart could serve as adjunctive therapy for MI. In this study we examined early and brief hyperbaric oxygenation on acute phase of MI in rats. **Methods:** After coronary artery occlusion, male Wistar rats were randomized to exposition during 1 hour in a small animal hyperbaric chamber to 100% O_2 at 2.5 ($HBO^{2.5}$, n=23) or 3.0 ($HBO^{3.0}$, n=25) atm absolute or ambient conditions as control group (CON, n=25). Afterward, were calculated mortality during therapy period and evaluated size of myocardial necrotic areas by 1% triphenyltetrazolium chloride stain method. Data were analyzed by 1-way ANOVA for MI size and Fisher's exact tests for frequencies comparison. **Results:** The entire experiment (pressurization, maintenance of HBO and depressurization) required about 1h20min. During this period, there was no difference in survival between HBO (2.5 and 3.0 atm: 100%) and CON (96%). MI size was smaller in HBO groups (2.5 atm: 27.0±3.3; 3.0 atm: 26.2±3.2% of LV) than in CON (41.0±3.1% of LV). Furthermore, distribution analysis of MI sizes indicated that frequency of large necrotic areas (>40% of LV) was significantly lower in $HBO^{2.5}$ (20%) and $HBO^{3.0}$ (27%) comparing to CON (56%). **Conclusion:** Early therapy in hyperbaric chamber with 100% O_2 during the 1st hour after coronary occlusion decreases average of MI size and incidence of large necrotic areas. These data suggest that HBO 2.5 to 3.0 atm may be useful in myocardial infarction therapy, especially at the acute period that precedes coronary reperfusion. **Financial support: Unifesp, Fapesp and CNPq.**

POS 01-06

Papel del aumento del sodio intracelular en la hipertrofia cardíaca por endotelina 1. Raúl A. Dulce, Claudia Caldiz, Verónica Correa, Gladys E. Chiappe de Cingolani, María C. Camilión de Hurtado.

Numerosos estudios muestran aumento de la concentración de sodio intracelular ($[Na^+]_i$) en el miocardio hipertrófico e insuficiente. El intercambiador Na^+/H^+ (NHE) miocárdico, una vía importante de entrada de Na^+, es estimulado por el péptido prohipertrófico endotelina-1 (ET-1). El objetivo de este trabajo fue explorar si el aumento de $[Na^+]_i$ mediado por el NHE participa en el efecto hipertrófico de ET-1 en miocitos cardíacos de ratas recién nacidas (MCRRN) en cultivo. Los MCRRN tratados con ET-1 (5 nmol/L) mostraron, comparado con los controles, a) mayor actividad del NHE (velocidad de expulsión de H^+ 13,7±2,8 vs. 2,5±1,2 mmol/L/min, n=5, P<0.05) con normal expresión del transportador, b) mayor $[Na^+]_i$ (8,1±1,2 vs. 4,2±1,3 mmol/L, n=4, P<0.05) c) mayor concentración intracelular de calcio ($[Ca^{2+}]_i$) (636±117, n=9 vs. 346±85, n=11 nmol/L, P<0.05) y d) mayor área celular e incorporación de ^{3}H-fenilalanina (131±3 y 220±12 % del control, respectivamente, P<0.05). Estos efectos fueron cancelados por inhibición del NHE con cariporide 1 μmol/L. La $[Na^+]_i$ elevada podría aumentar la $[Ca^{2+}]_i$ por reducir la salida a través del intercambiador Na/Ca (NCX) o promover el ingreso por el modo inverso del NCX (NCX_{inv}). ET-1 no modificó la expulsión de $Ca^{2+}{}_i$ por NCX luego de un pulso de cafeína (Tau 4,6±1,3 y 3,5±0,8 seg, n=5, en MCRRN controles y tratados con ET-1, respectivamente). KB R7943 5 umol/L (inhibidor del NCX_{inv}) normalizó la $[Ca^{2+}]_i$ en los MCRRN tratados con ET (326±27 nmol/L, n=12). Otra estrategia para inhibir el NCX_{inv} fue elevar la $[Na^+]$ extracelular. Ambas formas de inhibir el NCX_{inv} evitaron el efecto hipertrófico de ET-1. Los resultados muestran que la mayor entrada de Na^+ a través del NHE y la subsiguiente estimulación del NCX_{inv} median el efecto hipertrófico de ET-1, permitiendo proponer la inhibición NCX_{inv} como una estrategia preventiva/terapéutica potencialmente eficaz en hipertrofia cardíaca.

POS 01-07

Organización funcional del sincicio ventricular del corazón de mamífero. Vicente Hernández[3]; Francisco Félix[3]; Julián Torres[1] y Roberto Berra[2]. [1]Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.[2]Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. [3]Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, México. vicherna@uacj.mx

Se sabe que todas las células del corazón funcionan como unidades independientes, pero que, a su vez, se encuentran intercomunicadas a través de uniones de baja resistencia al flujo de la corriente, denominadas nexus o gap junctions. Bajo esta geometría de organización, se postuló que en el corazón todas las células se encuentran acopladas eléctricamente y que el miocardio del mamífero se comporta como un *sincicium* funcional. Aun cuando se acepta que el corazón se comporta como un sincicio funcional regular, hasta hoy, se carece de estudios sistemáticos asociados a la geometría de la organización morfológica y funcional de los tejidos ventriculares. En este trabajo cuantificamos, la resistencia de entrada y la corriente umbral en células que se organizan en un sistema no lineal como es el corazón de mamífero. Los experimentos se realizaron en el músculo papilar anterior derecho aislados del corazón de perro; superfundidos continuamente con solución de Tyrode oxigenado a temperatura de 37 ˚C. Los resultados indican que en los tejidos ventriculares del corazón de mamífero, la resistencia de entrada y la corriente umbral para iniciar potenciales de acción propagados, se relacionan inversamente. Se concluye: 1. Que el *sincicium* ventricular es irregular en términos de la resistencia de entrada y corriente umbral. 2. La resistencia de entrada y la excitabilidad de los miocitos cardiacos también es irregular y se relacionan inversamente con la cantidad de nexus que interconectan a las células ventriculares ordinarias.

POS 01-08

Precondicionamiento temprano contra el atontamiento postisquémico en ovejas conscientes. Rol de los canales de K+ dependientes de ATP. Elena Lascano, Jorge Negroni. Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina.

Introducción: El precondicionamiento temprano es un fenómeno por el cual episodios breves de isquemia-reperfusión que anteceden a una isquemia prolongada protegen al miocardio durante una isquemia posterior. Existen controversias acerca de la acción del precondicionamiento temprano (PT) contra el atontamiento en animales conscientes. El propósito de este trabajo fue estudiar PT contra el atontamiento en ovejas conscientes, y el rol de los canales de K+ dependientes de ATP (KATP) sarcolemales y mitocondriales en el mecanismo protector. **Material y Métodos**. Ovejas concientes crónicamente instrumentadas fueron divididas en los siguientes grupos, control (C): se efectuaron 12 min de isquemia regional seguida de 2 hr de reperfusión; PT: consistió en 6 períodos de 5 min de isquemia- 5 min de reperfusión, 45 min antes de una isquemia sostenida de 12 min; PT con los inhibidores de los KATP glibenclamida (Glib), HMR1098 y 5 hidroxidecanoato (5-HD) antes de la isquemia de 12 min. **Resultados y conclusiones**: Se comprobó protección por precondicionamiento temprano contra el atontamiento (C: 49.6±3.4 vs PT: 71.3±3.7, p< 0.01) y se demostró que los KATP son efectores imprescindibles de la protección, ya que su inhibición con el inhibidor inespecífico glibenclamida eliminó por completo la defensa del PT (54.2±4.5, NS vs C). Sin embargo, los KATP sarcolemales parecen tener un grado de participación mayor que los mitocondriales en la provisión de la protección, ya que el HMR1098, inhibidor específico de los KATP sarcolemales, fue capaz de abolir por completo la protección contra el atontamiento (53.2±6.4, NS vs C), mientras que el 5-HD, inhibidor específico de los KATP mitocondriales, no pudo eliminar la protección del PT (65.7±5.7, p<0.01 vs C).

POS 01-09

The Selective Aldosterone Receptor Antagonist Eplerenone Improves Vasomotor Dysfunction And Vascular Oxidative Stress Early After Myocardial Infarction. [2]Carmem Luíza Sartório, [1]Daniela Fraccarollo, [1]Meike Leutke, [1]Georg Ertl, [2]Ivanita Stefanon, [1]Johann Bauersachs, [1]Medizinische Klinik I, Julius-Maximilians-Universität, Würzburg, Germany. [2]Dept of Physiological Sciences, Federal University of Espírito Santo, ES, Brazil

Experimental and clinical studies have been shown the involvement of aldosterone in the pathogenesis of vasomotor dysfunction in heart failure. However, little is known about its vascular effects in the acute phase post myocardial infarction (MI). We investigated the vascular effects of the aldosterone receptor antagonist eplerenone in rats with acute MI. MI rats were treated with placebo (MI Pla) or eplerenone (MI Eple, 100mg/kg/day) for 7 days. Max ACh-induced relaxation was attenuated in aortic rings after MI (E_{max}MI Pla 82 *vs*.Sham 98%, $p<0.01$) and ameliorated by eplerenone (94%, $p<0.05$ *vs* MI Pla). The eNOS phosphorylation was reduced in the aorta of placebo rats with MI and improved by eplerenone. Aortic O_2^- formation was increased after MI (MI Pla 11±1*vs*.Sham 6.5±0.7 cpm/mg, $p<0.001$) and normalized in eplerenone treated rats (MI Eple 6.9±0.5, $p<0.001$ *vs*. MI Pla). In addition, expression of the NAD(P)H oxidase subunit $p22^{phox}$ was enhanced in aortae from MI rats, and reduced by eplerenone. Aortic expression of the antioxidant MnSOD was also upregulated by eplerenone. Furthermore, the constriction in response to angiotensin I as well as angiotensin converting enzyme (ACE) protein levels were enhanced in aortas from MI placebo rats, and reduced by eplerenone. Eplerenone improved endothelial dysfunction in the early phase post-MI. Underlying mechanisms involve inhibition of vascular ACE upregulation, improvement of eNOS-derived NO bioavailability and amelioration of oxidative stress by normalization of vascular O_2^-, reduction of NAD(P)H oxidase expression and improvement of antioxidant defence. Financial Support: CNPq; FAPES / FUNCITEC; Pffizer

POS 01-10

Evaluation of the cardiac function in rats treated with high dose of nandrolone. Ana Paula Tanno[1], Kaleizu Rosa[2], Tatiana Sousa Cunha[1], Fernanda Cristina Linarello Giordano[1], Caroline Morini Calil[1], Maria Cláudia Irigoyen[2], Fernanda Klein Marcondes[1]. [1]Physiological Sciences, Dental School of Piracicaba, UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil. [2]Hypertension Unit, Heart Institute, School of Medicine FMUSP, SP, Brazil.

The effects of the androgenic anabolic steroid nandrolone (5mg/Kg, 2x/ week, i.m.) on the cardiac function were analyzed in male Wistar rats divided into 4 groups: sedentary vehicle (SV), trained vehicle (TV), sedentary nandrolone (SN) and trained nandrolone (TN). Training was performed by jumping into water (50-70% body wt-load, 5 days/week, 6 weeks). Two days after the last training session, the rats were killed and submitted to echocardiography. Other animals, submitted to the same treatments, were killed and their right atria were isolated and *in vitro* concentration-effect curve to epinephrine were obtained, before and after the inhibition of neuronal and extraneuronal uptake systems. The data were compared by two-way ANOVA and Tukey test ($p<0.05$). The duration of isovolumic relaxation was increased in SN and TN groups compared to the respective vehicle-treated ones ($p<0.05$). Nandrolone treatment increased myocardial performance index in both sedentary and trained groups. There were no differences in the basal beating frequency of the cardiac pacemaker and the maximum response to the chronotropic effects of epinephrine, among the groups. Right atria from TV rats ($pD_2 = 7.11 \pm 0.06$) and TN (7.40 ± 0.02) were supersensitive to EPI in comparison to respective sedentary groups (6.88 ± 0.05 and 7.07 ± 0.05; $p<0.05$). The inhibition of uptake systems canceled this supersensitivity in the TN group (7.40 ± 0.02 x 7.38 ± 0.01; $p>0.05$). The increase in the myocardial performance index indicates that nandrolone treatment impaired the cardiac function and this effect seems to be related to the diastolic dysfunction. The supersensitivity to epinephrine could be a compensatory response to this deleterious effect of nandrolone in rats. Financial Support: FAPESP, FAEPEX - UNICAMP, CNPq.

POS 01-11

Blockade of apyrase with gadolinium increases the reactivity of aortic rings. Jhuli Keli Angeli, Fabiana Dayse Magalhães Siman, Ivanita Stefanon, João José de Freitas Sarkis, Dalton Valentim Vassallo. PPGCF, Centro Biomédico, UFES and Departamento de Ciências Fisiológicas, EMESCAM, Vitória, ES; Departamento de Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

Apyrase and 5'-nucleotidase are enzymes involved in adenosine production. Our aim was to investigate if the blockade of apyrase activity with gadolinium, which reduces the production of adenosine, affects vascular reactivity. Aortic rings were used to investigate the pressor responses to phenylephrine (PHE) before and after treatment with (3 μM) of gadolinium chloride (Gd). Dose-response curves to PHE (N= 6) (10^{-10} to 10^{-4} M), the effects of ATP (100 mM, N= 8) after pre-contractions with 10^{-4} M PHE were investigate. The effects of Gd in rings pre-contracted with 10^{-4} M PHE were also investigated after L-NAME (1 mM, N= 7) treatment in the presence and absence of endothelium. Developed tension was normalized to the tension developed by 75 mM KCl. Gd increased the maximum response (Emax) to PHE but not the sensitivity (pED_{50}). After pre-contraction with PHE ATP administration reduced developed tension but after Gd treatment the relaxing effect of ATP increased. The increased pressor response to PHE obtained after Gd administration was not affected by L-NAME treatment in the presence of

endothelium. This effect was abolished after endothelial damage. Results suggest that Gd increases the vascular reactivity to PHE probably by reducing the production of adenosine after apyrase activity reduction. This finding is reinforced by the fact that the ATP vasodilator action increases after apyrase activity reduction by Gd. This response is endothelium mediated and does not involve NO participation. These findings suggest that for a conductance vessel like aorta the adenosine production involving the apyrase activity is an operational mechanism like NO production. Research supported by CNPq and FAPES/FUNCITEC.

POS 01-12

Influence of fibroblasts conditioned medium (FCM) in the Thyroid Hormone-induced cardiac hypertrophy using primary cultures of neonatal cardiomyocytes. Barreto-Chaves, M.L.M[1]; Diniz, G.P[1] and Carneiro-Ramos, M.S[2] [1]Laboratory of Cell Biology and Functional Anatomy - Department of Anatomy, [2]Department of Cell and development Biology Institute of Biomedical Sciences - University of São Paulo, Brazil.

Objectives: Thyroid hormone is a potent factor able to induce cardiac hypertrophy in vivo, and in vitro, using cultures of neonatal cardiomyocytes. However, the contribution of fibroblasts conditioned medium (FCM) in its effect has not been evidenced yet. Then, the objective of present study was to investigate the role of FCM to the development of cardiac hypertrophy induced by T3, using primary cultures of cardiomyocytes. **Methods:** Cultures were prepared from neonatal ventricles of Wistar rats by colagenase/pancreatin method. Myocytes and fibroblasts were segregated using Percoll density gradient and cultured in DMEM containing serum. After the nonmyocytes cultures had received serum-free medium for 24 hours, they were submitted to serum-free medium, supplemented with T3 (10ηM) (FCMT3) or no (FCM) for 24h. After 24h the mediums were collected, supplemented with T3 (10ηM) (FCM+T3 or FCMT3+T3) or no (FCM or FCMT3) and used like FCM on cardiomyocytes cultures. Total RNA was isolated by Trizol, and cDNA was obtained. The Atrial Natriuretic Factor (ANF) was employed like cardiac hypertrophy marker, using specific primers to RT-PCR. The results were expressed as mean ± SD and $P<0.05$ (n=3). **Result:** T3 (249.4±46.5**) and FCM (169.8±33.3*) promoted a significant cardiac hypertrophy, expressed in % by increased ANF mRNA levels. The cultures of NRCM that received the FCM+T_3 exhibited an increase on ANF gene expression, compared to control cells (165.0±16.1*). However, the addition of T3 to FCM was not able to increase the ANF gene expression, compared to cells treated only with FCM. The cultures of cardiomyocytes that were treated with FCMT_3 showed an increase on ANF gene expression, compared to control cells (162.5±26.2*). However, the addition of T3 on neonatal fibroblast was not able to accentuate the increase on ANF gene expression provoked only by FCM. The cultures of NRCM that were treated with FCMT_3+T_3 showed an increase on ANF gene expression, compared to control cells (170.1±14.3*). However, the addition of T3 to neonatal fibroblasts, and the supplementation of this medium with T3 were not able to induce a significantly increase on ANF gene expression, compared to cells that received only FCM. These data demonstrate that FCM induces cardiomyocyte hypertrophy and that the addition of T3 is not able to accentuate this process. Thyroid hormone induces cardiomyocyte hypertrophy independently of its action on fibroblasts cultures. * vs control $p<0.05$; ** vs control $p<0.01$. Financial Support: FAPESP, CNPq.

POS 01-13

Angiotensin II-mediated oxidative stress and Akt expression in spontaneously hypertensive rats cardiac hypertrophy. Mariane Bertagnolli, Maria Flávia Marques Ribeiro, Maria Helena Vianna Metello Jacob, Vinícius Urbano Viegas, Adriane Belló-Klein, Katya Rigatto, Maria Cláudia Irigoyen. Laboratório de Fisiologia Cardiovascular, Departamento de Fisiologia, UFRGS, Brazil.

Angiotensin II contributes to the development of cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats (SHR) through mechanisms not fully understood. To assess intracellular signaling mechanisms of angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and its relation with oxidative stress in hearts of SHR. 20 weeks old rats divided in four groups: normotensive Wistar-Kyoto (WK) and SHR drinking tap water (n=4/group), or enalapril (10 mg/Kg, n=4; WKE or SHE, respectively) administered by gavage daily per 10 weeks. After treatment, femoral artery was cannuled for cardiovascular measurements (WINDAQ, 2KHz). Rats were killed and their hearts homogenated for lipid peroxidation (LPO) analysis by chemiluminescence (CL) and Akt protein expression by western blot analysis (n=3/group). Enalapril reduced mean arterial pressure (WK=107± 12, WKE=98± 5, SHR=157± 14, and SHE=123± 13 mmHg, $P<0.0001$) and cardiac hypertrophy index (WK=3.53± 0.22, WKE=3.18± 0.11, SHR=4.24± 0.14, and SHE=3.68± 0.09 mg/g, $P<0.0001$) in hypertensive rats. LPO was decreased in SHE compared with SHR group (WK=28154± 5822, WKE=23907± 3549, SHR=37387± 7753, and SHE=21664± 1972 cps/mg protein, P=0.005). Akt protein expression was higher in SHR groups compared with WK; however, enalapril reduced its expression in hearts of SHR (WK=96.3± 7.9, WKE=87.2± 11.9, SHR=145.8± 30.6, and SHE=109.1± 2.4 arbitrary densitometric units, P=0.01). Enalapril reduced oxidative stress and Akt protein expression, which may contribute to decreased cardiac hypertrophy in SHR. CNPq and FAPERGS.

POS 01-14

Effects of intra-aortic counterpulsation on arterial wall dynamics: in vivo experiments. Juan Camus[1,2], Daniel Bia Santana[3], Yanina Zócalo Germán[3], Eduardo de Forteza[1], Ricardo Armen-

tano[1,3], Edmundo Cabrera Fischer[1,2]. [1]Favaloro University, Buenos Aires, Argentina; [2]CONICET, Buenos Aires, Argentina; [3]Physiology Department, School of Medicine, Republic University, Montevideo, Uruguay.

Background. Aortic wall function plays an important role on left ventricular performance. Intra-aortic balloon pumping (IABP) could modify the arterial biomechanics; however its effects on arterial wall visco-elastic properties have not been explored. *Purpose*. Our aim was to characterize the effects of IABP on the aortic dynamics. *Methods*. IABP was performed in six anesthetized sheep in which aortic pressure (P, Millar microtip catheter) and diameter (D, Sonomicrometry) signals were measured to be used in off line calculi. *Results*. Systolic, diastolic and mean aortic wall stress in unassisted cycles during IABP were always significantly decreased respect to control values ($p<0.05$). Aortic wall distensibility show a high increase in unassisted cycles during IABP respect to control values (from 0.94 ± 0.25 to 1.62 ± 0.81 10^4.mmHg^{-1}), however without statistical significance. Calculated values of buffer function in unassisted cycles during IABP showed a significative increase respect to control (from 4.50 ± 1.45 to 7.68 ± 2.25 10^2.s; $p<0.05$). *Conclusions*. Circulatory assistance using IABP produced significative changes in aortic wall intrinsic properties determining an increase of the arterial buffer function. These improvements could ameliorate left ventricular performance during IABP.

POS 01-15

Angiotensin type 2 receptor (AT2) expression in thyroid hormone-induced hypertrophy in primary cultured of cardiac myocytes. Carneiro-Ramos, M.S.[1]; Diniz, G. P.[2]. and Barreto-Chaves, M.L.M[2]. [1] Department of Cell and Developmental Biology[2] Department of Anatomy - Laboratory of Cell Biology and Functional Anatomy - University of São Paulo, Brazil.

Objectives: Renin-Angiotensin System (RAS) has been associated with cardiac hypertrophy induced by thyroid hormone. However, few is known regarding the regulation of Angiotensin receptors in cardiac cells after hyperthyroidism condition. Methods: Newborn rat ventricular cardiomyocytes were obtained from 1 to 2 day old Wistar rats. After successive digestion of tissue, cardiomyocytes were separated using a Percoll gradient and pooled in DMEM enriched with Newborn Calf and Horse Serum. 24 hours before the treatment, cells were maintained in serum free media. Cells were treated with crescent doses of T3 (1ηM - 1μM) during 24 hours. After that, total RNA was obtained from cardiomyocytes and the ANF and AT2 gene expression were evaluated using semi quantitative RT-PCR. The ANF has been used for literature as a reliable cardiac hypertrophy marker. Results: After treatment, cardiomyocytes presented a significant increase on ANF expression (up to 76%) showing the hypertrophic state of these cells. However, the AT2 expression was significantly decreased after treatment with T3, characterizing a dose-response relation, which showed the lowest expression level with 0.1μM of T3 (21.43%). Conclusion: The effect of Thyroid hormone on decreasing AT2 receptors levels on cardiac myocytes suggests an important role of hormone on local/cardiac RAS regulation. Financial support: FAPESP.

POS 01-16

Angiotensin type 2 receptor (AT2) expression in culture of Vascular Smooth Muscle Cell (VSMC) submitted to thyroid hormone treatment. Carrillo-Sepúlveda, M.A.; Barreto-Chaves, M.L.M. Department of Anatomy - Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, 05508-900, São Paulo, Brazil.

Thyroid hormone (T3) is known as vasodilator that acts directly on VSMC causing reduction of systemic vascular resistance. Moreover, T3 is able to promote modulation of local renin-angiotensin system. Thus, the present study investigated the effect of T3 on the AT2 receptor gene expression in VSMC cultured. **Methods:**VSMC were obtained from rat thoracic aortas, isolated by explant technique, and used at passage 3th. Before treatment, cells were maintained in quiescent state. VSMC were treated with crescent doses of T3 (1ηM, 10 ηM, 1μM, 0.1μM) for 24 hours, total RNA was extracted and the AT2 mRNA were analyzed by RT-PCR. Statistical analysis was performed using ANOVA. Results were expressed in mean ± SD and $p<0.05$ considered as statistically significant. **Results:** The cells passage 3th were confirmed to be smooth muscle cells by their typical "hill and valley" morphology and by alpha-actin immunofluorescent staining (>90%).Contamination with endothelial and fibroblast cells were ruled out by negative immunofluorescent staining with anti von Willebrand factor VIII and anti vimentin antibodies, respectively. Exposure of VSMC to different concentration of T3 significantly increased AT2 gene expression levels when compared to control group, with maximum expression in 0.1μM T3 group (74,82% ± 12,34%;n=6; $p<0.001$).**Conclusion:** All concentration of T3 used in our study was able to increase AT2 receptor expression at transcriptional level in VSMC. This result suggests that upregulation of AT2 gene expression may play an important role for a long term T3-induced vascular relaxation. **Financial support:** FAPESP.

POS 01-17

Curva de expresión de un plásmido codificante para $VEGF_{165}$ humano en músculo esquelético isquémico de conejos. Luis Cuniberti, Gustavo Yannarelli, Gustavo Vera Janavel, Daniela Olea, Patricia Cabeza Meckert, Nahuel Fernández, Andrés Bercovich, Rubén Laguens, Alberto Crottogini. Universidad y Fundación Favaloro, Argentina. Bio Sidus, Argentina.

Se ha desarrollado en el país un nuevo plásmido codificante para $VEGF_{165}$ humano (pVEGF), cuya aplicación terapéutica futura incluye la enfermedad vascular perifé-

rica. Para adecuar la posología, es requisito pre-clínico conocer la dinámica de expresión génica en el tejido blanco. Objetivo: determinar la curva de expresión de pVEGF en músculo esquelético isquémico. Material y Métodos: a 7 días de la extirpación de la arteria femoral superficial y ligadura de la profunda del miembro inferior izquierdo, 24 conejos New Zealand White recibieron 10 inyecciones intramusculares de 0,38 mg cada una de pVEGF. Mediante técnica de RT-PCR semicuantitativa se analizó la expresión de VEGF en el cuádriceps isquémico a 3, 7, 10, 14, 21 y 35 días post-transfección (n=4 por tiempo). Como control se estudiaron 4 conejos con inyección de plásmido vacío en el tiempo de máxima expresión. Resultados: La expresión fue mínima a 3 días, máxima a 7 días ($P<0.05$) y progresivamente menor hasta los 35 días, cuando la reacción fue positiva excepcionalmente. Conclusiones: el patrón de la curva hallada sugiere que la expresión del pVEGF es transiente y que por tratarse de un vector plasmídico podría readministrarse entre 2 y 3 semanas después del primer tratamiento para lograr una expresión sostenida durante un tiempo más prolongado.

POS 01-18

Influence of Renin Angiotensin System (RAS) in the Thyroid Hormone-induced cardiac hypertrophy. Study using primary cultures of neonatal cardiomyocytes. Diniz, G.P[1].; Carneiro-Ramos, M.S[2] and Barreto-Chaves, M.L.M[1]. [1]Laboratory of Cell Biology and Functional Anatomy - Department of Anatomy, [2]Department of Cell and Development Biology. Institute of Biomedical Sciences - University of São Paulo, Brazil.

Objectives: We have previously demonstrated *in vivo* the participation of RAS in the thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy. However, the contribution of cardiac RAS for this effect has not been evidenced yet. Then, the objective of present study was to investigate the role of local RAS to the development of cardiac hypertrophy induced by T3, using primary cultures of cardiomyocytes. Methods: Cultures were prepared from neonatal ventricles of Wistar rats by colagenase/pancreatin method. Myocytes were segregated using Percoll density gradient and cultured in DMEM containing serum, which was changed to serum-free medium after 48 hours. Cells were treated with T3 (10ηM), T3 plus Losartan (0.3μM) and/or T3 plus Enalapril (1μM) for 24h. Total RNA was isolated by Trizol, and cDNA was obtained. The Atrial Natriuretic Factor (ANF) was employed like cardiac hypertrophy marker, using specific primers to RT-PCR. The results were expressed as mean ± SD and $P<0.05$ (n=3). Result: T3 promoted a significant cardiac hypertrophy, expressed in % by increased ANF ($316\pm31.3^{***}$) mRNA levels. The cardiac hypertrophy was prevented partially by administration of losartan ($163.2\pm25.4^{\#\#\#}$) or by enalapril ($336.1\pm48.5^{***\ \#\#}$). These results indicate that the local (cardiac) RAS has an important role in the development of thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy *in vitro*, once the RAS inhibitors were able to prevent partially the cardiomyocyte hypertrophy provoked by T3. *** vs control $p<0.001$; ## vs 10nM $p<0.01$; ### vs 10nM $p<0.001$. Financial Support: FAPESP, CNPq

POS 01-19

Cardiac Sympathetic overactivity and modulation vagal reduced after blockade of endogenous endothelin in rats. Hugo C.D. Souza[1], Gustavo Ballejo[3], Maria Cristina O. Salgado[3], Valdo J. Dias da Silva[4], Helio C. Salgado[2]. Departments of Biomecanic and Rehabilitation[1], Physiology[2] and Pharmacology[3], School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP. Department of Biological Science[4], School of Medicine of Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, Brazil

INTRODUCTION: The present study evaluated the changes in the autonomic control of heart rate and arterial pressure after the inhibition of endogenuos endothelin. Rats were treated with bosentan (by gavage) during seven days (BOSENTAN group), whereas control group was treated with water (VEHICLE group). **METHODS AND RESULTS:** The BOSENTAN group developed tachycardia (436 ± 7 *vs*. 368 ± 4 beats/min). The sequential blockade of the autonomic influences with propranolol and methylatropine indicated that the intrinsic heart rate increased in the BOSENTAN group (411 ± 9 *vs*. 381 ± 4 beats/min) and revealed a cardiac sympathetic overactivity and supression of vagal activity in the control of heart rate in this group. The spectral density power of heart rate, calculated using autoregressive method, indicated a increased variability in the low (0.25 - 0.75 Hz) frequency band (1,87 ± 0,41 *vs*. 0,61 ± 0,15 ms^2) and reduced variability in the high (0.76 - 2.5 Hz) frequency band (3,04 ± 0,52 *vs*. 8,64 ± 1,39 ms^2) for the BOSENTAN group. The baroreflex sensitivity was also attenuated in this group when compared to the VEHICLE group. **CONCLUSION:** Overall, these data indicate cardiac sympathetic overactivity as well vagal suppression after chronic blockade of endogenous endothelin with bosentan in rats that might be, at least in part, ascribed to a decreased baroreflex sensitivity. Key words: endothelin, heart rate, heart rate variability. Support: FAEPA, FAPESP

POS 01-20

Small lead concentrations reduces tetanic and post rest contraction tension development of the rat left ventricle papillary muscles. Mirian Fioresi, Lorena Barros Furieri, Juliana Lizardo, Ivanita Stefanon, Dalton Valentim Vassallo. Universidade Federal do Espírito Santo - Ciências Fisiológicas. Vitória, Espírito Santo, Brazil.

Lead exposure is considered to be a risk factor of cardiovascular disease (Tsao *et*. *al*., 2000). We aimed to investigate the effects of small doses of lead on the cardiac contractile activity. Male Wistar (250-350g) rats were killed and left ventricle papillary muscles were removed and mounted in a temperature regulated bath.

Isometric contracting preparations superfused with Tyrode's solution HEPES buffered, at 26°C and pH = 7.46. We measured state steady contraction (SSC), relative post pause potentiation (PPP-15,30,60s), changes in stimulation rate (CS-0.1 to 1.0Hz), tetanic contractions (TC) after 5 mM caffeine treatment and post rest contractions (PRC-10min), before and after 8 μM Pb acetate. Results: mean±SEM. Statistical analyses: one way ANOVA for repeated measurements; Student's t-test. Significance for $P<0.05$. After 30 min of Pb exposure progressive reduction ($P<0.05$) of force development of the tetanic peak occurred. The PRC (10min) decreased ($P<0.05$) after Pb treatment (1h exposure). However, the SSC, PPP, CS and the tetanic plateau tension did not change ($P>0.05$) after Pb treatment. Small concentration of Pb caused an impairment of the contractile activity of the rats left ventricle papillary muscles. The tetanic tension redution and the lack of effect on PPP and the PRC reduction suggests that lead might act as a calcium channel blocker

POS 01-21

Angiotensina II e Endotelina 2 humanas na regulação da freqüência cardíaca de modelo invertebrado -o camarão *Palaemonetes argentinus.* Ederson S. Medeiros, Laura G. Storino, Anderson Abel S. Machado, Carla A. Neves. Laboratório de Zoofisiologia, Depto. De Ciências Fisiológicas, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Brasil.

A Angiotensina II (Ang-II) e a Endotelina 2 (E2) são potentes vasoconstritores, involvidos no controle da pressão sangüínea, do tonus vascular e na homeostasia eletrolítica e dos fluidos corporais dos vertebrados. A Ang-II influencia a osmorregulação e a memória de invertebrados, porém não há relatos de efeitos cardiovasculares, enquanto que a E2 é descrita para estes, porém sua função é desconhecida. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de hormônios humanos Ang-II e E2 na freqüência cardíaca (FC) de invertebrados, usando como modelo animal o camarão *Palaemonetes argentinus* (Decapoda). Os camarões foram divididos em três grupos: Controle, Ang-II e E2. Cada camarão recebeu 10 μL do respectivo hormônio (concentração de 0,5 μM) na base do segundo pleópodo. A FC (batimentos por minuto média ± desvio padrão) foi determinada por videomicroscopia nos tempos 0, 15, 30, 60 e 180min. A E2 (199 ± 48) não alterou a FC dos camarões em respeito aos controles (199 ± 55). A Ang-II aumentou significativamente a FC (201±31) no tempo 180min em relação aos controles (142±16). Os hormônios não modificaram a FC ao longo do tempo. Os controles do experimento-Ang-II mostraram redução significativa da FC no tempo 180min, o que não foi observado para os controles do experimento-E2. Esta redução representa uma adaptação ao estresse da câmara experimental. A não aclimatação dos controles do experimento-E2 pode indicar um efeito do estresse de injeção. Como os camarões que receberam Ang-II mantiveram a FC elevada ao longo de todo o experimento, evidencia-se pela primeira vez, um efeito cardioativo da Ang-II em invertebrados. Futuramente será construída uma curva dose-resposta para esses hormônios nesta e em outras espécies de crustáceos. **Apoio Financeiro: FAPERGS - FURG**

POS 01-22

El diazóxido (DZ), abridor del canal mitocondrial de potasio sensible al ATP (K-ATPmito), preserva la permeabilidad mitocondrial en corazones de rata sometidos a isquemia global (I)-reperfusión (RP) Marina Prendes MG, Hermann R, Pascale NG, González ME, Sorter S, Savino EA, Varela A. Cat. Fisiología, Fac. Farm.y Bioq., UBA, IQUIMEFA.CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Se evaluaron los efectos del DZ (10μM) sobre la contractilidad y la transición de permeabilidad mitocondrial en corazones perfundidos Langendorff sometidos a I (25 min)-RP (30 min) (n=8/grupo). El DZ, que en concentración μM abre los K-ATPmito sin afectar los canales ubicados en el sarcolema, fue agregado al medio 10 min antes de la I hasta el final del experimento y el 5-hidroxidecanoico (HD) (100μM), bloqueante de los K-ATPmito, 5 min antes del DZ o 15 min antes de la I hasta el final del experimento. La contractilidad se evaluó con el producto Presión sistólica x Frecuencia (PxF) y la contractura con la presión diastólica final (PDF). La permeabilidad mitocondrial se evaluó con la técnica de atrapamiento de ^{3}H-desoxiglucosa (DG). Los corazones fueron cargados con DG (30 min), seguidos de 15 min con medio sin DG, previos a la I-RP. La DG entra al miocito, es convertida en DG-6P y no es metabolizada. Sólo penetra a la mitocondria cuando ocurre apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial y sólo abandona la célula cuando se altera la permeabilidad del sarcolema. La sóla administración de HD no afectó la contractilidad ni la permeabilidad mitocondrial pero revirtió parcialmente los efectos del DZ: PxF, RP-10 min: Control (C):28±7, DZ:54±9 ($p<0,05$), DZ-HD:14±3%, PDF, RP-5 min: C:49±11, DZ:13±5, $p<0,05$, DZ-HD:19±2%); captación mitocondrial de DG: C:96±14, DZ:27±13 $p<0,05$, DZ-HD:86±22 10^5 x dpm mitocondrial/unidad de citrato sintetasa/dpm totales/gh). El DZ no fue capaz de preservar la permeabilidad del sarcolema (10^3x dpm totales/gh: C:51±4, DZ:53±4, DZ-HD:76±6). Los resultados indican que la apertura de los K-ATPmito preserva la permeabilidad mitocondrial en las células intactas, efecto que se acompaña de una mejor recuperación funcional.

POS 01-23

Efectos de la isquemia-reperfusión (I-RP) sobre corazones de ratas diabéticas (D) por estreptozotocina. Enrique Savino, Gustavo Testoni, Alicia Varela, María Marina-Prendes, Martín Donato. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA; IQUIMEFA-CONICET; Departamento de Patología, Facultad de Medicina, UBA Buenos Aires Argentina.

Es controversial si el corazón aislado de ratas D es más resistente a la I-R. Para aportar datos al tema se usaron ratas ♂ tratadas con estreptozotocina 50 mg/kg iv o con el vehículo (C). Se perfundió según Langendorff con Ringer-bicarbonato, glucosa 10 mM, estimulando a 5 Hz. Después de 30 min de equilibrio se aplicaron distintos lapsos de I-RP. Se midieron la presión desarrollada (PD), las +dP/dt y -dP/dt máximas, la presión diastólica final (PDF), los contenidos de lactato, glucógeno y triacilglicerol, y el volumen de tejido no viable. Resultados: los corazones de ratas D de 3, 6, 8 y 10 semanas expuestos a I 25 o 35 min, desarrollaron menor PDF y mejor recuperación al RP. En D de 3 semanas los corazones expuestos a 35 min de I- 30 min de RP, la recuperación de la PD fue D:92,2±6,2 vs C:58,8±1,2 %;+dP/dt 116,5±19,2 vs 66,5±8,7;-dP/dt 112,5±14,8 vs 67,1±7,4 %; y la PDF 0,0 vs 15,5±6,21 %; p<0,01 todos los grupos. .El lactato acumulado al fin de I fue D:57,6±10,2 vs C:57,3±9,7 µmol/g ps. El glucógeno (mg/100 mg ps) pre-I fue D 340±74 vs C 322±66,fin de I 97±57 vs 123±57 y fin de RP 350±106 vs 53±13 (p<0,05).El triacilglicerol (µmol/g ps) fue en D vs C, pre-I 5,5±0,2 vs 4,4±0,3, fin de I 4,9±0,5 vs 4,4±0,6, fin de RP 5,6±0,3 vs 4,4±0,6.El tejido no viable (% de área en riesgo): D 14,4± 4,3 vs C 15,7±7,0. Se concluye que en este modelo experimental la D por estreptozotocina aumenta la resistencia a los daños funcionales de la I-RP, independientemente del tiempo de evolución y la duración de la I. Estos efectos no se vinculan con los contenidos de lactato, triacilglicerol y glucógeno aunque los C muestran rápida resíntesis de este sustrato. La ausencia de cambios en el volumen de tejido viable indica que los efectos protectoresde la D se ejercen modificando la función de los cardiomiocitos viables.

POS 01-24

El ayuno previo (24 hs) no impide la transición de la permeabilidad mitocondrial (TPM) en el corazón de rata sometido a isquemia global (I)-reperfusión (RP). Marina Prendes MG, Torresín E, González M, Nanni N, Gómez R, Savino EA, Varela A. Cat. Fisiología, Fac. Farm. y Bioq., UBA, IQUIMEFA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

Trabajos anteriores demostraron que el ayuno previo mejora la funcionalidad del corazón sometido a I-RP. El objetivo fue investigar si los desvíos metabólicos producidos por el ayuno se acompañan de preservación de la permeabilidad mitocondrial en el corazón perfundido Langendorff sometido a I(25 min)-RP(30 min). Corazones de ratas ayunadas (Ay) o alimentadas (Al) fueron cargados con ^{3}H-desoxiglucosa (DG) durante 30 min seguidos de 13 min de perfusión sin DG previos a la I-RP. La DG entra a las células, es convertida en DG-6P y no es metabolizada. Queda atrapada en las células que no han sufrido necrosis y sólo penetra a las mitocondrias que han sufrido TPM. Los parámetros metabólicos fueron medidos en otro grupo de corazones sometidos a I. Los Ay mostraron mayor acumulación isquémica de acyl CoA (46.97±3.71vs32.62±1.62 nmol/gh, p<0.05) y menor acumulación de lactato (112.5±15.1vs153.7±14.2 µmol/gs, p<0.05) que los Al. Estos cambios metabólicos no se acompañaron de preservación de la permeabilidad mitocondrial: la captación de DG en las mitocondrias aisladas al finalizar la I-RP fue similar en Ay y Al (86±11vs96±14 dpm mitocondrial x 10^{5}/unidad de citrato sintetasa x dpm totales/gh). La citrato sintetasa mitocondrial fue igual en Ay y Al (16.71±1.89vs16.89±1.96 UI/gh). El contenido celular de DG al final del experimento fue similar en ambos grupos (Ay:45.35±3.47vs Al:51.34±4.47 dpm totales x 10^{3}/gh), coincidiendo con igual liberación de creatina kinasa al medio durante los primeros 5 min de RP (Ay:8.95±1.39 vs Al:12.24±1.64UI/gh). Los resultados indican que la protección funcional ejercida por el ayuno no se debe a preservación de la permeabilidad mitocondrial ni a menor necrosis celular. Podría deberse a la inhibición de la glucólisis durante la I y/o a una mayor disponibilidad de metabolitos anapleróticos para la RP.

POS 01-25

Disparidad en los tiempos de expresión de VEGF entre especies: limitaciones de su extrapolación a terapia génica en humanos. Gustavo Yannarelli, Luis Cuniberti, Gustavo Vera Janavel, Daniela Olea, Patricia Cabeza Meckert, Andrés Bercovich, Rubén Laguens, Alberto Crottogini. Universidad y Fundación Favaloro, Argentina. Bio Sidus, Argentina.

Los estudios de angiogénesis por terapia génica en humanos no incluyen, por razones éticas, el análisis de los tiempos de expresión génica en los tejidos transfectados. En general, ese dato se extrapola de estudios en cerdos, asumiendo que, al tratarse de un mamífero grande, las diferencias no deberían ser significativas. Si esto fuese cierto, los tiempos de expresión en el cerdo y en otros mamíferos grandes deberían ser similares. Nuestro objetivo fue comparar los tiempos de expresión del gen de VEGF en cerdos y ovejas con enfermedad coronaria experimental. Material y métodos: A 20 cerdos y 20 ovejas con isquemia y/o infarto de miocardio se les efectuó 10 inyecciones intramiocárdicas (0,38 mg c/u) de un plásmido codificante para $VEGF_{165}$ humano. A 4 cerdos y 4 ovejas se les inyectó plásmido vacío (grupo control). Mediante RT-PCR semicuantitativa se analizó la expresión de VEGF en el miocardio a 3, 7, 10, 15 y 35 días. Resultados: En cerdos, el pico de expresión fue a los 10 días (p<0,05) y en ovejas a los 3 días de la transfección (p<0,01). La expresión se negativizó a los 35 días en cerdos y a los 7 días en ovejas. Los controles fueron negativos. Conclusión: Dos especies de mamíferos grandes expresan el mismo gen a diferentes tiempos post transfección, restando verosimilitud a la extrapolación de esos tiempos a humanos. Presumiblemente las diferencias en la respuesta inmune entre especies puedan dar una posible explicación a los resultados obtenidos.

POS 01-26

Efecto de la Angiotensina II sobre la producción del anión superoxido por el tejido cardia-

co. Claudia Caldiz, Alejandra Yeves, Gladys Chiappe de Cingolani, Horacio Cingolani. Centro de Investigaciones Cardiovasculares. Fac Cs Médicas. Univ de La Plata. Argentina.

La participación de la Angiotensina II (Ang II) en la génesis de la hipertensión y la hipertrofia cardiaca se debe en parte a la producción del anión superoxido ($O_2^{\cdot}$) y H_2O_2. En el presente estudio se diseñaron experimentos para estudiar los mecanismos que participan en la producción $O_2^{\cdot}$ inducida por la Ang II en tejido cardiaco de gato. El $O_2^{\cdot}$ se determinó en cortes de tejido ventricular izquierdo por quimioluminiscencia en presencia de lucigenina 5 uM y los resultados se expresaron en unidades arbitrarias (UA)/min/mg de peso seco. Con respecto al control (116.0±7.5, n=32) la Ang II aumento el $O_2^{\cdot}$ a 165.6±8.9, n=34, P<0.05). Dicho aumento se suprimió con el bloqueante de la NAD(P)H oxidasa apocinina 300 mM (122.6±20.6, n=8); bloqueando los receptores AT1 con losartan 1 uM (99.7±9.8, n=8); inhibiendo el NHE1 con HOE 642 10 uM (113.0±2.6, n=4); y bloqueando los canales de K^+ dependiente de ATP mitocondriales con 5-HD 100 uM (119.33±1/, n=6). El valor basal de $O_2^{\cdot}$ no se afectó en presencia de los diferentes bloqueantes. Los resultados están de acuerdo con la hipótesis de que la Ang II por estimular la NAD(P)H oxidasa, origina cantidades de $O_2^{\cdot}$ pequeñas o colocalizadas con el canal de K^+ sensible a ATP mitocondrial, el cual al abrirse despolariza la mitocondria y produce la liberación de $O_2^{\cdot}$ mensurable con nuestras técnicas. El bloqueo del NHE1 previene esta cadena de eventos actuando en un eslabón aun no determinado.

POS 01-27

Susceptibilidad al daño miocárdico con isoproterenol en ratones nulos para la catalasa. Agustina Cano[1], Alvaro Vargas[1], Osiris Cuevas[2], Luis Covarrubias[2]. [1] Departamento de Fisiología, Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez", México D.F. [2]Instituto de Biotecnología. UNAM. Cuernavaca Mor. México.

La falla cardiaca subsecuente al infarto miocárdico se asocia con un incremento del estrés oxidativo miocárdico así como con un déficit antioxidante. La catalasa juega un papel importante como antioxidante celular relacionado con factores de riesgo cardiovascular y envejecimiento. Aquí presentamos resultados preliminares sobre la susceptibilidad al daño miocárdico inducido con isoproterenol (Iso) en ratones nulos para catalasa (híbridos C57/129, homócigos (-/-) para la catalasa) de diferentes edades. Se evaluó fibrosis intersticial (FI), muerte celular (MC) e hipertrofia ventricular (peso ventricular (PV)/peso corporal (PC), 24 horas después de la administración de Iso. No se encontraron diferencias significativas en la proporción de FI y MC entre los diferentes genotipos. Los resultados como valores porcentuales del valor de PV/PC de cada genotipo en comparación con sus respectivos controles (salina) se resumen en la tabla. La mayor susceptibilidad al daño miocárdico por Iso en los ratones nulos* para catalasa en asociación con la edad llama la atención sobre la posibilidad de considerarlos como modelo para estudiar agentes antioxidantes en la alteración cardiovascular y/o diabética, ya que la prevalencia de ambas condiciones de enfermedad se incrementa exponencialmente con la edad.

Edad (meses) Genotipo	8	12	16	20
Silvestre	3.7±1.1	15.8±3.2	26.6±3.6	29.3±3.5
Cat +/-	2.1±1.0	18.2±2.3	23.8±3.3	31.1±3.6
Cat -/-	2.6±1.2	44.8±4.2*	46.3±4.0*	57.2±4.8*

POS 01-28

Activación de la zona subventricular en ratones con lesiones corticales desvascularizantes. Mauricio Castañeda, Martín López Vicchi, Vanesa Torbidoni, María Iribarne, Marcelo Villar, Angela M. Suburo. Facultad de Ciencias Biomédicas, Universidad Austral, Pilar B1629AHJ. Mcastaned@cas.austral.edu.ar

La zona subventricular (ZSV), próxima a los ventrículos laterales, contiene precursores neuronales y gliales que proliferan y migran después de lesiones corticales experimentales. Estas células expresan prominina-1 (P-1, CD133), una tetraspanina. Algunos precursores neuronales expresan proteína glial fibrilar ácida (GFAP), aunque la relación entre ambos fenotipos no ha sido aclarada. Estudiamos estos marcadores en la ZSV de ratones C57Bl6/J machos sometidos a lesiones devascularizantes de las áreas corticales M1, M2 y S1. El déficit motor consecutivo se recupera parcialmente. Los ratones fueron sacrificados y perfundidos 5 días después de la devascularización, obteniéndose cortes de cerebro para detección de inmunoreactividad de P-1 y GFAP. La ZSV presentó los mismos patrones de inmunoreactividad en los ratones controles y en el hemisferio contralateral a la lesión. En estas ZSVs hubo escasas estructuras P-1+. Estas eran abundantes en el hemisferio lesionado: células con inclusiones en el sitio de lesión, células estrelladas entre el cuerpo calloso y la lesión, y numerosas células y prolongaciones en la ZSV. En la ZSV de los controles apareció GFAP en prolongaciones y estructuras puntiformes próximas al ventrículo. Las estructuras GFAP+ aumentaron notoriamente en la ZSV del hemisferio lesionado. El área ocupada por GFAP+ parecía ser de mayor tamaño que el área ocupada por P-1+. El aumento de las estructuras P-1+ y GFAP+ en la ZSV de los hemisferios con lesiones devascularizantes sugiere que células originadas en la ZSV podrían contribuir a la recuperación funcional. La distribución desigual de las estructuras P-1+ y GFAP+ indicaría la presencia de dos subpoblaciones precursoras o, alternativamente, distintos grados de maduración y diferenciación de las células troncales.

POS 01-29

Energetic study of ischemia-reperfusion in rat neonatal hearts: differences with adult in Ca homeostasis. Consolini, AE[(1)], and Bonazzola,

P.[(2)], [(1)] Farmacología, Fac. Cs Exactas Univ. Nac.La Plata (UNLP), and [(2)] ININCA, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

Neonatal hearts differ from adult in Ca homeostasis and ischemia-reperfusion performance. For evaluating the protective role of cardioplegia-high K-low Ca (CPG-0.5 mM Ca), hearts from neonatal rats (10-12 days old) were perfused at 25ºC and pretreated with CPG-0.5 or control Krebs (C) and exposed to 15 min ischemia (I)-45 min reperfusion (R) while continuously measuring contractile force (F) and total heat release (H_t). In C hearts, F recovered until 58.4 ± 10.0% of preischemic during R, while CPG-0.5 pretreatment did not protect (69.8 ± 9.6% of F pre-I) in contrast to that observed in adults. Ht (in $mW.g^{-1}$) fell during I from 11.5 ± 0.8 to 1.1 ± 0.3 and recovered to 13.0 ± 0.9 at the end of R (113% of pre-I) in C and to 12.2 ± 1 (121%) in CPG-0.5. A pretreatment with CPG-2 mM Ca increased F recovery by R until 90.7 ± 9.4 %* and Ht to 12.1 ± 2.7 $mW.g^{-1}$ (120%, NS), suggesting an increase in muscle economy. For studying the mechanism involved we pretreated with: a) CPG-0.5+caffeine 10 mM: it increased F recovery to 97.5 ± 9.0%* and Ht to 13.1 ± 0.6 $mW.g^{-1}$ (117%); b) CPG-0.5+KB-R7943 5 μM: it increased F recovery (from 88.3 ± 11.3%* at 5 min R to 73.4 ± 7.4% at 45 min R) and Ht to 12.3 ± 0.8 mW. g^{-1} (106.8 %). Since in adult rat hearts, CPG-0.5 increased contractility recovery, while both caffeine and KBR strongly decreased it, these results suggest that neonatal hearts have a different Ca homeostasis during I-R. The results suggest that in neonates there would have a store of Ca enhanced by Ca influx during CPG depolarization, which is sensitive to [Ca]o but caffeine-insensitive. Caffeine effects in CPG-Ca 0.5 mM were predominantly on sarcolemma for increasing contractility recovery, and KBR effects could be explained either by an increase in [Na]i and consequent mitochondrial Ca contribution or by an increase in the Ca-store.(*: $p<0.05$ vs CPG-0.5). Grant X-408 UNLP.

POS 01-30

Cardiac adenine nucleotides (ATP, ADP and AMP) hydrolysis in soluble and microsomal fractions are modulated by thyroid hormone. Guilherme Cotomacci.[1]; João José F. Sarkis[2]; Maria Luiza M. Barreto-Chaves.[1] [1]Dept of Anatomy, Institute of Biomedical Sciences, USP, Brazil. [2]Dept of Biochemistry, Institute of Basic Sciences of Health, UFRGS, Brazil.

The aim of this study was to investigate the effect of thyroid hormone on the enzyme cascade that hydrolyze ATP, ADP and AMP in soluble and microsomal fractions obtained from cardiac tissue. Male Wistar adult rats were divided in five groups: Control; T4-10; T4-25; T4-50 (10μg, 25μg and 50μg of T4/100g body weight, respectively) and hypothyroid group (thyroidectomyzed rats + methimazole + $CaCl_2$ added to their drinking water), treated during 14 days. After treatment the ventricles were homogenizated and after sucessive centrifugations were obtained soluble and microsomal fractions. The ecto-ATPase, ecto-ADPase and ecto-AMPase activities in these fractions were determined in the presence of ATP, ADP or AMP substrates, respectively. The hydrolyze of these nucleotides were analysed by measuring Pi released and determined by a colorimetric method using malachite green and NaH_2PO_4 as a Pi standard. The specific activities were expressed as nmol Pi/min/mg of protein. These data shown that hyperthyroidism stimulates ATP hydrolysis in T4-50 group (24.06 ± 1.23, n=6, $P<0.001$) and decrease AMP hydrolysis in T4-25 (11.43 ± 1.29, n=9, $P<0.05$) and T4-50 (10.57 ± 1.66, n=7, $P<0.01$) both substrates in the soluble fraction. In hypothyroid group the ATP, ADP and AMP hydrolysis are all stimulated in the microsomal fraction (4303.86 ± 512.6, n=6, $P<0.05$; 567.75 ± 83.36, n=7, $P<0.01$; and 299.20 ± 43.96, n=6, $P<0.001$, respectively) while that in the soluble fraction only ATP (24.89 ± 1.57, n=7) and AMP (21.57 ± 1.73, n=5) hydrolysis are stimulated ($P<0.001$). Therefore the hyperthyroidism may contribute to decreasing levels of adenosine in cardiac tissue reducing cardioprotective effect. In contrast, the hypothyroidism stimulates entirely the ectonucleotidase cascade favoring an increase on adenosine levels and perhaps contributing to the cardiac maintenance.

POS 01-31

Efecto de la hormona de crecimiento sobre el infarto agudo de miocardio ovino. Daniela Olea, Andrea De Lorenzi, Gustavo Vera Janavel, Patricia Cabeza Meckert, Claudia Cortés, Oscar Cendoya, Andrés Bercovich, Rubén Laguens, Alberto Crottogini. Universidad Favaloro, Fundación Favaloro y Bio Sidus, Buenos Aires. Argentina.

La hormona de crecimiento (GH) ha demostrado tener efectos cardioprotectores tempranos en el infarto agudo de miocardio (IAM) de roedores. Sin embargo, no hay estudios a largo plazo en mamíferos grandes. A 16 ovejas con IAM experimental se les administró al azar 8 UI/día de rhGH subcutánea (n=8) o vehículo (n=8) durante 70 días. Se midió la concentración de IGF1, se realizaron estudios ecocardiográficos y cateterismo para evaluar la función ventricular regional y global, se midió el tamaño de infarto por planimetría endocárdica, y el porcentaje de fibrosis por histología. Pocos días después del IAM, el grupo GH aumentó los niveles de IGF1 comparado a su valor basal (227±42 ng/ml vs.157,7±78 ng/ml, $p<0,01$) y al placebo (227,13±42 ng/ml vs. 130,29±41 ng/ml, $p<0,001$), exhibió mayor peso corporal que el placebo (34 ±2,7 kg vs. 31±2,7 kg, $p=0,05$), mejor fracción de acortamiento (30,7±3,5% vs. 24,7±6,1%, $p<0,05$), mayor espesor parietal sistólico (10,1±0,8 mm vs. 8,6±1,2 mm, $p<0,01$), mayor onda s del doppler tisular de la pared anterior comprometida (8,1±2,5 cm/seg vs. 5,7±1,2 cm/seg, $p<0,05$) y mayor volumen minuto (3,4±0,6 l/min vs. 2,4±0,6 l/min, $p<0.01$). A partir de los 15 días, las diferencias intergrupo en los parámetros de función ventricular fueron desapareciendo, junto con un aumento espontáneo de los valores de IGF1 en el grupo placebo. El tamaño de

infarto no difirió entre grupos, pero sí el espesor parietal peri-infarto (GH: 1,01±0,5 cm, vs. placebo 0,66±0,2 cm, p<0,01) y la Relación Fuerza-Frecuencia, que fue normal sólo en el grupo tratado (Pearson´s R=0,77; p<0.03). Conclusión: En el IAM ovino la administración de GH mejora precozmente la función ventricular regional y global, pero en el largo plazo sólo persisten diferencias en los índices de función global, asociadas a un mayor espesor parietal peri-infarto.

POS 01-32

El bloqueo farmacológico de ENaC cardiaco disminuye $[Na^+]_i$ y tiene efecto inotrópico negativo. Andrés González y Luis Michea. Universidad de Los Andes, Santiago-Chile.

El balance entre el influjo y eflujo de sodio al cardiomiocito determina la concentración de sodio intracelular ($[Na^+]_i$), modulando la función contráctil. El corazón de rata expresa el Canal Epitelial de Sodio (ENaC). Se estudió la actividad de ENaC en tejido cardiaco de rata adulta y su papel en la contractilidad cardiaca. Estudios funcionales fueron realizados con cardiomiocitos aislados de ventrículo izquierdo, cargados con la sonda fluorescente sensible a Na^+, SBFI. Benzamil (bloqueador específico de ENaC, 1 μM) disminuyó significativamente $[Na^+]_i$ desde 9.6±0.1 mM a 6.2±1.4 mM. La Inhibición de Na^+-K^+ ATPasa aumentó $[Na^+]_i$ a 43±4 mM en células control y sólo a 23±3 mM en cardiomiocitos tratados con benzamil. El agonista $\beta_1$adrenérgico isoproterenol, aumentó $[Na^+]_i$ de 10.94±1.28 mM a 26.98±5.28 mM. Este aumento fue bloqueado por benzamil (6.66±1.54 mM, P<0.05 vs control). Finalmente, utilizando el sistema de corazón aislado de Langendorff, se analizó el papel que juega ENaC en la contractilidad miocárdica. Tras 20 minutos de aplicación, benzamil disminuyó significativamente la presión sistólica máxima ($LVSP_{max}$ 16.64±2.48%, P<0.05) y la contractilidad del ventrículo izquierdo ($dP/dT_{máx}$ 12.79±-3.70%, P<0.05). La aplicación de vehículo no tuvo efectos sobre estas variables (3.22±2.71% y 3.60±2.12%, respectivamente). Además, evaluamos la respuesta inotrópica promovida por isoproterenol en estudios dosis-respuesta (10^{-10}-10^{-6} M). Isoproterenol aumenta tanto la $LVSP_{max}$ como dP/dt_{max}, incrementos disminuidos significativamente por benzamil (n=7, P<0.05) y su análogo amilorida (300nM; n=6, P<0.05). Los resultados indican que ENaC es una nueva vía de entrada de Na^+ al cardiomiocito, y que participaría en la contractilidad basal y en la respuesta inotrópica a agonistas β_1-adrenérgicos. FONDECYT 1050690.

POS 01-33

Estudio ecocardiográfico de la hipertrofia ventricular izquierda fisiológica y patológica en ratas. Eduardo Manuel Escudero, Oscar Andrés Pinilla, Verónica Beatriz Carranza. Centro de Investigaciones Cardiovasculares. Universidad Nacional de La Plata, Argentina

La hipertrofia ventricular izquierda es considerada un mecanismo de adaptación del corazón ante diferentes sobrecargas. Sin embargo esa respuesta puede resultar o no fisiológica dependiendo de una serie de factores que modifican la estructura y función del miocardio. Se analizaron los efectos del ejercicio y de la hipertensión arterial sobre las características de la hipertrofia desarrollada, en 3 grupos de ratas macho de la misma edad (8 Meses): a- ratas Wistar control (C), b- ratas Wistar que realizaron ejercicio en cinta deslizante durante 10 semanas (E); y c- ratas espontáneamente hipertensas (SHR). La estructura y función del ventrículo izquierdo fueron estudiadas mediante eco-Doppler. Se obtuvieron los valores de presión arterial en cada animal (PAS) en forma no invasiva, por el método de la cola. Con los datos obtenidos se calculó el índice de masa ventricular izquierda (IMVI) como expresión de la estructura y el índice de performance miocárdico (IPM) para evaluar la función. El ejercicio y la hipertensión arterial generaron similar aumento del IMVI en relación a las ratas controles (C: 1.64±0.02, SHR 2.17±0.12; E 2.15±0.01 p <0.05). El IPM fue mayor en las SHR en relación a C y E, como expresión del deterioro de la función ventricular izquierda (SHR: 0,47±0,05, E 0,21±0,02 y C 0,22±0,03 p< 0,05). El análisis de los resultados evidencia que ante similar respuesta hipertrófica, la desarrollada por aumento de la presión arterial se acompañó de deterioro de la función ventricular, hecho no detectado en la generada por la actividad física; estos hallazgos confirman a su vez la utilidad de la ecocardiografía en el estudio de la hipertrofia ventricular izquierda en animales de laboratorio

POS 01-34

La regresión de la hipertrofia cardíaca inducida por inhibición del intercambiador Na+/H+ se acompaña de un efecto antiapoptótico. Carolina D. Garciarena, Irene L. Ennis, Enrique L. Portiansky, Horacio E. Cingolani. Centro de Investigaciones Cardiovasculares. Facultad de Ciencias Médicas, UNLP. Argentina

Na^+/H^+ exchanger (NHE-1) inhibition was demonstrated to induce the regression of cardiac hypertrophy (CH) in several experimental models and to inhibit mitochondrial death pathway in "in-vitro" experiments. We investigated the effect of chronic treatment with the NHE-1 blocker cariporide on CH and apoptosis in the hypertensive hypertrophy of the SHR.

One month of treatment of cariporide (3mg/kg/day) induced the regression of CH without significant changes in blood pressure. Left ventricular weight to body weight ratio was 3.00±0.06 and 2.44±0.07 for untreated and treated SHR, respectively ($p < 0.05$). While a significant decrease in cardiomyocyte cross sectional area was achieved after one month of treatment (468±20 vs. 285±9 μm^2, untreated and cariporide-treated SHR respectively; $p < 0.05$), left ventricle collagen volume fraction persisted almost the same (10.07±2.42 in untreated SHR and 8.93±1.26 % after one month of cariporide treatment; NS). The expression of Bcl-2 and Bax was assessed by Western blot analysis in the left ventricle of untreated and one month treated

SHR. Chronic treatment with cariporide induced down-regulation of Bcl-2 and upregulation of Bax in the left ventricular myocardium of the SHR. Therefore, the Bcl-2/Bax ratio increased (0.323±0.031 vs. 0.601±0.06, untreated and cariporide-treated SHR respectively; $p < 0.05$).

POS 01-35

Vasopresina activaría la 11-β hidroxiesteroide deshidrogenasa 2 en el corazón de ratas doca-sal. Loreto Carrasco, Luis Michea. Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de los Andes, Santiago, Chile.

Es conocido que la combinación de niveles de mineralocorticoides (aldosterona, deoxicorticosterona) con una dieta rica en sal induce daño cardiovascular, esto se acompaña de aumentos en los niveles de vasopresina. Sin embargo, el mecanismo molecular que explica el papel de alta sal en el desarrollo de daño cardiaco es desconocido. El tejido cardiaco expresa el receptor de mineralocorticoide (MR) y la enzima 11β-hidroxiesteroide-deshidrogenasa 2 (11β-HSD2), que confiere especificidad a la acción de aldosterona. Estudiamos si vasopresina regula la expresión cardiaca de 11β-HSD2 en ratas uninefrectomizadas tratadas con Deoxicorticosterona-sal (DOCA 30 mg/Kg, NaCl 1% en el agua de beber por 8 días). Los niveles plasmáticos de vasopresina aumentaron significativamente en ratas DOCA-sal (600±4,1% P<0,01; n=8). Cuantificamos la abundancia de mRNA de ANP, BNP, receptor de glucocorticoide (GR), MR y 11β-HSD2 por RT-PCR en tiempo real. Los resultados muestran que el tratamiento DOCA-sal produjo un aumento significativo en la abundancia del mRNA de ANP (3,3 veces), BNP (2,6 veces) y 11β-HSD2 (3,5 veces) con respecto a las ratas controles. No se observaron cambios en la abundancia del mRNA de MR. En cambio el tratamiento DOCA-Sal disminuyó la abundancia del transcrito GR en más de un 50%. Cultivos primarios de cardiomiocitos fueron estimulados con concentraciones crecientes de vasopresina (10^{-11}-10^{-9}M), lo que produjo aumentos en la abundancia del mRNA de 11β-HSD2, vasopresina no produjo efectos en la abundancia del mRNA del GR comparados con el control estimulado con vehículo. Los resultados de los experimentos *in vitro* sugieren que vasopresina aumentaría directamente la abundancia del transcrito 11β-HSD2, por una acción directa sobre el cardiomiocito *in vivo*. FONDECYT 1050690, 3060026.

POS 01-36

QT interval dispersion in diabetic patients. Eduardo R. Migliaro, María Angélica Gómez, Sandra Mai. Depto de Fisiología, Fac Medicina, Univ de la República Montevideo, Uruguay.

The QT interval (QT) of the electrocardiogram (ECG) reflects the duration of the action potentials of ventricular cells. This interval can be modified by the process of depolarization and repolarization of ventricles. In the last years, the QT has been measured and different formulae were used to correct it for the heart rate. Besides, QT dispersion has been calculated as the difference between the longest and the shortest interval in a 12 derivations ECG. In this work we preferred to use a single derivation to evaluate the QT dispersion in the time (QTVI) by means of the algorithm

$$QTVI = \frac{VarianceQT/(QTmean)^2}{VarianceRR/(RRmean)^2}$$

which is a modification of the equation described by Berger et al. (Circulation 1997;96:1557-1565). Diabetic patients can develop three types of complications potentially responsible for the dispersion of the QT: autonomic neuropathy, diabetic myocardiopathy and myocardial ischemia. We studied 15 insulin-dependent diabetic patients (DG), then we divided them in two subgroups according to the presence of ischemia (GD-I, n=5) or not (GD-nI, n=10). Twelve healthy subjects (similar age and gender profile) were used as controls (CG). QT and RR intervals were measured in all subjects, by means of a semi-manual mode in a 10 min ECG. Variance, mean value and QTVI were calculated for both intervals. QTVI was significantly higher ($p<0.05$) in the GD than in the CG. The variance of the RR intervals was clearly lower in the DG ($p<0.05$). GD-nI behaves in a similar way that GD, high QTVI is maintained in GD-I that also show an increase of the variance of the QT ($p<0.05$). Therefore we conclude that this study allows the differentiation of patients with a genuine dispersion of QT (GD-I) from those who have a prolonged QTVI purely related to the decrease of the RR variability owing to autonomic neuropathy.

POS 01-37

Thyroid hormone down regulates M-protein expression in rat heart. Patricia Ney Kato[1], Antonio G. Soares[1], Alexandre H. Kihara[1], Maria L. Barreto-Chaves[2], Jean-Claude Perriard[3], Dania E. Hamassaki-Britto[1], and Anselmo S. Moriscot[1], [1]Department of Cell and Developmental Biology, and [2]Department of Anatomy, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo, Brazil.[3]Institute of Cell Biology, ETH-Zurich Honggerberg, CH-8093 Zurich, Switzerland

The molecular basis for the deleterious effects of supraphysiological doses of triiodothyronine (T_3) in the heart are not well understood, although intense myofibrillar disarrays suggest that structural sarcomeric genes are involved, specially those included in the M-band, i.e. myomesin, EH-myomesin and M-protein. Therefore the present work was undertaken to investigate the effect of thyroid hormone on M-band structural proteins in adult rat heart and in cardiomyocytes. Real time RT-PCR analysis showed that T_3 (1, 5, 50 and 100 physiological doses for 2 days) severely decreased M-protein gene expression *in vivo* in a dose-dependent manner. Furthermore, M-protein gene expression was elevated 3.4 fold in hypothyroid rats. *In vitro* studies showed that T_3 (10^{-7}M) is able to reduce M-protein gene expression (to 30% of control after 12 hours) in cardiomyocytes. Immunofluorescence analysis demonstrated that M-protein

levels are decreased with T_3 treatment (100 physiological doses for 2, 4 and 8 days). Interestingly, myomesin and EH-myomesin mRNA and protein levels are not altered by T_3. We conclude that M-protein expression is strongly and rapidly repressed by T_3 in cardiomyocytes in a specific manner since the expression of other structural M-band proteins is unaltered. Molecular mechanisms underlying this effect might include mRNA destabilization, decrease in transcriptional rate and specific protein degradation.

POS 01-38

El canal epitelial de sodio renal (ENaC) también está presente en tejido cardíaco. Venegas, F. y Michea, L. Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad de Los Andes, Santiago, Chile.

La $[Na^+]_i$ es regulada en cardiomiocitos por el balance entre los mecanismos de influjo y eflujo de sodio. El Canal Epitelial de Sodio (ENaC) media el transporte de sodio a través de la membrana plasmática en tejidos epiteliales. Estudiamos la potencial expresión de ENaC en tejido cardíaco de rata. Mediante RT-PCR se detectaron mRNAs para las subunidades α, β y γ ENaC en ventrículo izquierdo. De igual forma, detectamos la expresión de las tres subunidades de ENaC en cultivo de cardiomiocitos de ratas neonatas. Estudios de *Western Blot*, utilizando anticuerpos anti α, β y γ ENaC, demostraron la presencia de bandas inmunoreactivas específicas en homogenado de proteínas totales ventriculares de 96, 102 y 92 kDa, respectivamente, consistentes con las bandas observadas en tejido epitelial. En experimentos de inmunoprecipitación con anti–β ENaC coprecipitaron las subunidades α y γ ENaC. Así mismo, las subunidades α y β ENaC fueron coprecipitadas con anti γ–ENaC. Mediante inmunofluorescencia de criosecciones de ventrículo izquierdo de rata observamos marcaje para β y γ ENaC que predomina en la región de los discos intercalares. Nuestros resultados demuestran por primera vez la expresión de ENaC en tejido cardíaco. La coinmunoprecipitación y colocalización de las subunidades ENaC en tejido cardíaco, sugieren la presencia de un canal heteromérico formado por α, β y γ ENaC. FONDECYT 1050690.

POS 01-39

Correlations between frequency-domain heart rate variability indexes and lagged poincaré plot width in healthy and diabetic subjects. Paola Contreras[1], Rafael Canetti[2] and Eduardo R Migliaro[1]. [1]Depto de Fisiología and [2]de Control y Electrónica Industrial, Fac de Medicina e Ingeniería. Univ de la República. Montevideo, Uruguay.

The conventional Poincaré plot (PP) for heart rate variability (HRV) analysis is a scatterplot of successive (lag 1) pairs of intervals between heartbeats (RR interval). The most common indexes to quantify PP are related to HRV statistical indexes [1]. There is also a relationship between PP indexes and spectral indexes (the energy in the heart period power spectrum for high or low frequencies, HF and LF respectively). For example, the PP width has a high correlation with HF [2]. Our objective was to assess the physiological and clinical interpretation of the width of PP constructed with different lags in a group of subjects with normal HRV (Control group, N=15) and in a group of subjects with impaired HRV (Diabetic group, N=15). PP width (SD1) was quantified using the formula: $SD1=SDSD/\sqrt{2}$, being SDSD the standard deviation of successive differences between RR intervals. In addition, SD1 was calculated for lags 1-10, using SDSD but considering RR intervals separated by more than 1 interval instead of successive intervals. The spectral indexes HF (0.15-0.4Hz) and LF (0.01-0.15Hz) were estimated and correlated with SD1 for lags 1-10. The Diabetic group showed lower HRV indexes than the Control group (Mann Whitney, $p<0.05$). SD1 increased for longer lags in both grupos (Friedman, $p<0.05$). In the Control group, SD1 correlated better with HF (Spearman correlation coefficient $r\geq0.9$) than with LF for lags 1 and 2 and better with LF than with HF for lags 4-10. However, in the Diabetic group, SD1 correlated better with HF than with LF for all lags (1-10). The comparative strength of correlations rather than the absolute values of the indexes might be used to distinguish health from pathology. [1] Brennan, et al IEEE Trans Biomed Eng 2001 [2] Brennan et al Am J Phyisiol 2002.

POS 01-40

Participation of mitochondrial transporters on recovery of contractility in postischemic rat hearts. Ragone, M.I., Consolini, A.E. Cátedra de Farmacología. Facultad de Ciencias Exactas. Univ. Nac. de La Plata (UNLP). Argentina.

The role of mitochondria on ischemia-reperfusion (I-Rep) and protection by pretreatment with high-[K]o-low [Ca]o cardioplegia (CPG) were studied. In previous work, we show that clonazepam 10 μM (Clzp, an inhibitor of mitochondrial Na/Ca-exchanger, mNCX) in CPG reduced the contractility recovery of ischemic hearts during Rep. Clzp also induced a quick relaxation of the contracture induced by 10 mM caffeine-36 mM Na-Rep with an increase in heat release, suggesting that it would induce mitochondrial mechanisms of Ca-uptake. To evaluate the role of mitochondrial K channels ($K_{ATP,m}$) on the CPG-protection, hearts were pretreated with CPG + 5HD 100 μM (5-hidroxidecanoate, an inhibitor of $K_{ATP,m}$). Intraventricular pressure (P) and heat release (Ht) were continuously measured during 45 min I - 45 min Rep at 30ºC. 5-HD increased basal heat release of CPG (from 7.5 ± 2 to 27.0 ± 3.9* mW/g) and did not modify P and Ht recovery during Rep, suggesting an increase in basal metabolic activity. To evaluate whether 5-HD increased the Ca-dependent mitochondrial activity, hearts were pretreated with CPG + 5-HD 100 μM + Clzp 10 μM. The Ht was reduced respect to that of CPG+5-HD (13.3 ± 1.1* mW/g), and similar to CPG+Clzp (17.7 ± 3.4 mW/g), suggesting that both drugs would contrarily act for regulating the mitochondrial energetic consume, which is dependent on [Ca]m.

Also, 5-HD avoided the reduction of P recovery by Rep induced by Clzp (50.0 ± 6.4 vs 74.4 ± 6.0* % P for CPG+Clzp and CPG+5HD+Clzp, respectively). To evaluate an opposite effect of both drugs, [Clzp] was increased from 10 to 30 μM on CPG+5-HD 100 μM, which did not affect the basal Ht (12.4 ± 4.4 mW/g). P recovery during Rep was reduced from 74 to 57%, suggesting a reduction of mitochondrial Ca contribution to SR. Results suggest that CPG induces a mitochondrial Ca contribution to posischemic recovery with the participation of mNCX and $K_{ATP,m.}$ (* P<0.05; Grant X-408 UNLP).

POS 01-41

The anabolic steroids associated with exercise training impaired the coronary blood flow in rats mediated by adenosine dependent mechanism. Roque FR[1], De Angelis K[2], Coelho MA[1], Irigoyen MC[2], Sarkis, JJF[3] e Oliveira EM[1]. [1]School of Physical Education and Sport-USP, [2]Laboratory of Hypertension-Heart Institute, [3]Department of Biochemistry-UFRGS-Brazil.

Adenosine (Ado) and capillarity density (CD) have been considered to be important local modulators of many physiological processes. The aim of this study was evaluate the impact of two mechanisms involved in the coronary blood flow (CBF) regulation in the association of swimming training (SwT) with anabolic steroid (AS) administration in rats. We evaluated the adenosine formation by degradation of adenine nucleotides (AN) and myocardium capillary density. Wistar rats (n=28) were divided in control (C), steroid (S) (nandrolone decanoate, 10mg/kg/wk), trained (T), and trained steroid (ST). SwT consisted of 10wk (60min, 5days/wk, 5% b.w overload). CBF was quantified by the colored microspheres (mi). Myocardium CD by microscopy. Serum hydrolyses of AN by enzymatic assay. Left ventricular (LV) hypertrophy was found in S, T, and ST groups, but this increase was greater in ST group. The CBF was higher in T compared to C, S and ST groups (7024±907 vs. 4142±461, 4206±588 and 3471±708 mi/heart weigh, respectively). Myocardium CD decreased in ST compared to C, S and T groups. The ATP hydrolyses was higher in T and ST compared to C and S groups (0.89±0.07, 0.98±0.08 vs. 0.62±0.03, 0.50±0.03, respectively) but the ADP and AMP hydrolyses was higher only in T group when compared to C, S and ST (ADP 1.41±0.08 vs.0.87±0.07, 0.82±0.06, 1.07±0.10; AMP 0.60±0.04 vs. 0.45±0.04, 0.37±0.03, 0.46±0.03 respectively).Supraphysiological doses of AS exacerbated LV hypertrophy and caused impairment in CBF induced by SwT. The results suggest that changes in CD and high ADP concentration associated to decrease in the Ado formation cascade activity (potent vasodilatation in ST group may be related with lower CBF.

POS 01-42

Modificaciones del sincicio funcional en el corazón de rata con diabetes insulino dependiente. Ana L. Márquez[2]; Juan C. Andrade[2]; Edith Sandoval[2]; Salvador Rodriguez[2]; Francisco Félix[2]; Julián Torres[1]; Roberto Berra[1] y Vicente Hernandez[2]. [1]Instituto de Fisiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México. [2]Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, México. vicherna@uacj.mx

La adecuada generación y propagación del potencial de acción en el corazón de mamífero, se debe a la interacción entre sus propiedades activas y pasivas; esta particularidad hace que el miocardio se comporte como un sincicio funcional regular. Las evidencias obtenidas en corazones de organismos sanos, sugieren que los tejidos ventriculares tienen una geometría de organización irregular; evaluada en términos de resistencia de entrada y corriente umbral. Por tanto, si la organización estructural y funcional del sincicio ventricular es heterogénea; entonces, en la diabetes experimental es probable que la irregularidad se acentué y en consecuencia el corazón se torne arritmogénico. Los experimentos se realizaron en músculos papilares aislados del ventrículo izquierdo del corazón de ratas sanas y con diabetes, superfundidos continuamente con Tyrode oxigenado a temperatura 37 ˚C. Los resultados indican que, la corriente umbral y la resistencia de entrada se relacionan de manera inversa en ambos grupos experimentales. Sin embargo, en las preparaciones de ratas con diabetes se localizaron sitios de tejido con mayor resistencia de entrada y menor umbral intracelular. Asimismo, siempre que se encontraron zonas de mayor resistencia de entrada en contacto con zonas de resistencia de entrada menor, la propagación de respuestas prematuras ocurrió con bloqueo seguida de actividad reentrante. Se concluye: Que las modificaciones estructurales y funcionales obtenidas en la diabetes pueden ser el sustrato esencial para que el corazón muestre mayor susceptibilidad a las arritmias.

POS 01-43

Efectos del precondicionamiento isquémico sobre el tamaño del infarto miocárdico en ratas espontáneamente hipertensas (SHR): papel del estrés oxidativo. Juliana Fantinelli, Guillermo Schinella, Ignacio Pérez Nuñez, Susana M Mosca. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Cs Médicas, Univ. Nac. de La Plata, Argentina.

El precondicionamiento isquémico (PI) protege al miocardio de animales normotensos contra las alteraciones provocadas por la isquemia/reperfusión. Con el objeto de evaluar los efectos del PI en SHR, corazones aislados y perfundidos con la técnica de Langendorff fueron sometidos, después de un período de estabilización de 20 min, a los siguientes grupos experimentales: (1) Control isquémico: 35 min de isquemia global (IG) y 2 hs de reperfusión (R); (2) PI: un ciclo de 5 min IG + 10 min de R previo a la IG de 35 min y 2 hs de R. Al término del período R, se midió el tamaño del infarto, mediante la tinción con TTC y la contractilidad se evaluó a través de la presión desarrollada del ventrículo izquierdo (PD). En otros corazones se determinó la

actividad de la enzima antioxidante SOD, la concentración de glutatión reducido (GSH) y se estimó la peroxidación lipídica a través de la concentración de las sustancias sensibles al ácido tiobarbitúrico (TBARS). El PI produjo una disminución significativa del tamaño del infarto (12 ± 3 %) y de la PD (13 ± 3%) comparado con el grupo control isquémico (35 ± 5 % y 5 ± 1%, respectivamente). La actividad de SOD y la concentración de TBARS disminuyeron y los niveles de GSH aumentaron en los corazones precondicionados en relación a los controles isquémicos (0.0387 ± 0.004 vs 0.0628 ± 0.004 U/mgprot, 0.49 ± 0.08 vs 0.84 ± 0.04 nmol/mg prot, 25.6 ± 4.8 vs 10.1 ± 1.8 μg/mg prot, $p< 0.05$). Nuestros resultados muestran que el PI disminuye el tamaño del infarto y mejora la recuperación postisquémica de la contractilidad miocárdica en las SHR. Estos efectos cardioprotectores del PI pueden ser atribuídos a la disminución del estrés oxidativo detectado en los corazones precondicionados.

POS 01-44

Increase of vascular permeability, angiogenic activity and wound healing by a protein fraction from natural latex of rubber tree *Hevea brasiliensis*. Ricardo J. Mendonça, Vanessa B. Maurício-Sorgi, Maria Leticia P. Agostini, Viviane S. Ferre, Joaquim Coutinho-Netto, Department of Biochemistry and Imunology/FMRP-USP - Brazil.

The angiogenesis, sprouting new vessels from pre-existing vessels, impacts on many important disease states including cancer, ischemic cardiovascular disease, inflammation and wound healing. It has been suggested that the latex from *Hevea brasiliensis* possess angiogenic activity, leading us to initiate the purification of active(s) compound(s) and to characterize it, in order to demonstrate its angiogenic activity and its effects on vascular permeability and wound healing. In this work, we showed the angiogenic activity and stimulation of wound healing by a fraction protein obtained from natural latex of rubber tree, on *"in vivo"* models. The crude latex was fractionated by chromatography and its activity analyzed by Miles' test (vascular permeability), CAM - chorioallantoic membrane eggs assays (angiogenicity) and rabbit ear wound model (wound healing). Three fractions were obtained from first chromatographic step in DEAE-cellulose (a ion change resin) and named (FrHB1, FrHB2 and FrHB3). The fraction FrHB1 showed increase of vascular permeability in 75% and about 60% angiogenic activity. This one was able to stimulate wound healing. The fraction FrHB1 was submitted to another step chromatography in HPLC and the new fractions were analyzed by same methods. The active fraction, named *Hevenina*, showed a higher specific activity on the Miles' test (0,13 ±0,05; $p<0,01$; $n=6$) and CAM (0,23 ±0,08; $p<0,01$; $n=12$). The purification efficiency was demonstrated by PAGE-electrophoresis, where a band protein of ~20 KDa showed higher degree of homogeneity. The isoelectric point was determinate = 4,2. An angiogenic protein (reported as hevenina) was isolated and it can be the responsible for the wound healing activity of natural latex of rubber three. Financial Support: CAPES e FAEPA.

POS 01-45

Infarto Agudo do Miocárdio Experimental: Determinação da Área de Infarto Através de Planimetria. Gabriela Nicolaidis, Rafael Dall Alba, Andréia Cristiane Taffarel, Angela M. V. Tavares, Luis Eduardo Rohde, Nadine Clausell. Laboratório de Pesquisa Cardiovascular - Centro de Pesquisas, Hospital de Clínicas de Porto Alegre - HCPA / UFRGS - Porto Alegre, RS, BRASIL.

A insuficiência cardíaca (IC) secundária à doença arterial coronariana é subseqüente a um episódio de infarto agudo do miocárdio (IAM). O IAM leva a perda de massa muscular dependente da área de necrose. Estudos experimentais demonstram relação direta entre área de infarto e grau de IC subseqüente. Neste estudo padronizamos a medida da área de infarto (AI) por planimetria, em modelo experimental de IAM. Foram utilizados ratos Wistar (n=10) com 60 dias. A cirurgia consistiu da ligadura da artéria coronária descendente anterior (DA) com fio mononylon 6.0, tórax aberto e ventilação mecânica. Após 28 dias, os animais foram mortos e os corações retirados e fixados em formalina para macroscopia. Após, foram seccionados transversalmente em três regiões: basal (abaixo da oclusão da DA), medial (central em relação a maior circunferência por dilatação ventricular) e apical. Foram realizados cortes histológicos de 3μm das três regiões. Os cortes foram corados com tricrômico verde para diferenciação da área de tecido viável (TV) (vermelho) e de tecido fibrótico (TF) (verde). Os cortes foram fotografados utilizando um negatoscópio, papel milimetrado como parâmetro de medida e câmera digital acoplada em um microscópio estereoscópico. A seguir, as imagens foram digitalizadas em "*photoshop*" onde foram demarcados o TF e o TV do ventrículo esquerdo. As áreas foram mensuradas em mm^2 e foi calculada a média das três regiões para cada coração. Considerando a média de TF de cada animal, 1/10 atingiu AI < 10%, 4/10 atingiram entre 11% - 35% e 5/10 > 35% (AI média = 33%). Neste estudo adaptamos a técnica de planimetria para determinar a AI a fim de incorporá-la como ferramenta nas análises dos parâmetros necessários ao estudo do comportamento da IC perante novas estratégias terapêuticas.

Apoio: CNPq, FAPERGS, FIPE/HCPA.

POS 01-46

Administración única vs. repetida del gen de $VEGF_{165}$ sobre la angiogénesis y las lesiones musculares isquémicas en conejos con enfermedad vascular periférica experimental. Daniela Olea, Gustavo Vera Janavel, Patricia Cabeza Meckert, Luis Cuniberti, Gustavo Yannarelli, Gustavo Lev, León Valdivieso, Oscar Méndiz, Jorge Cors, Andrés Bercovich, Rubén Laguens, Alberto Crottogini. Universidad Favaloro, Fundación Fava-

loro y Bio Sidus, Buenos Aires, Argentina.
Los ensayos clínicos en pacientes con enfermedad vascular periférica (EVP) luego de la transfección con plásmidos codificantes para $VEGF_{165}$ (pVEGF) han arrojado resultados desalentadores. Dado que, según hemos demostrado, la expresión del pVEGF es transitoria (a 35 días es indetectable en los tejidos transfectados), hipotetizamos que para obtener un efecto terapéutico sostenido la administración (adm.) debe ser repetida. A 30 conejos sometidos a extirpación de la arteria femoral superficial izquierda y ligadura de la profunda se les inyectó al azar y a ciegas plásmido vacío a los 7 y 21 días de la operación (placebo, n=10), pVEGF a los 7 y placebo a los 21 días (adm. única, n=10) y pVEGF a los 7 y 21 (adm. repetida, n=10). A los 50 días de la cirugía, el flujo arterial (eco doppler seriado) y la densidad de colaterales de conductancia (angiografico) aumentó tanto en el grupo de adm. repetida (297±21 colat/cm^2) como en el de única (296±14) respecto del placebo (210±14, p<0,01; ANOVA), pero el grupo con adm. repetida mostró mayor densidad capilar (repetida: 84,6±15 cap/100 miocitos vs. única: 49,4±15 y placebo: 49,3±14; p<0,01, ANOVA) y arteriolar (repetida: 3,0±0,9 art/mm^2 vs. única:1.9±0.7 y 1.5±0,6; p<0,01, ANOVA). Sólo la doble adm. resultó en menor porcentaje de músculos con daño histológico (repetida: 25% vs. única: 47% y placebo: 60%; p<0,04, χ^2). Conclusión: Sólo la adm. repetida del pVEGF induce la neoformación y estabilización de la microvasculatura (capilares y arteriolas), la cual, a su vez, protege del daño muscular isquémico. Estos resultados sugieren que en pacientes con EVP debe repetirse la administración de pVEGF para obtener protección tisular.

POS 01-47

Efecto de la transfección con gen de $VEGF_{165}$ sobre la evolución temprana y alejada del infarto agudo de miocardio ovino. Gustavo Vera Janavel, Daniela Olea, Andrea De Lorenzi, Luis Cuniberti, Patricia Cabeza Meckert, Andrés Bercovich, Alberto Crottogini, Rubén Laguens. Universidad Favaloro, Fundación Favaloro y Bio Sidus, Buenos Aires.

La reducción del tamaño de infarto agudo de miocardio (IAM) es fundamental para mejorar la función ventricular y prevenir el remodelamiento. Una estrategia para lograrla es la angio-miogénesis. Hemos demostrado que la inyección de un plásmido codificante para $VEGF_{165}$ (pVEGF) induce angio-miogénesis en cerdos con isquemia miocárdica crónica. En este trabajo evaluamos el efecto del pVEGF sobre la evolución del IAM a 7, 10, 15 y 60 días. A 50 ovejas se les ligó la descendente anterior y se les inyectó randomizadamente y a ciegas 3,8 mg de pVEGF (n=25) o plásmido vacío (n=25). A los 7 días el grupo VEGF tenía mayor densidad capilar (1.805±221 n/mm²) que el placebo (703±35; p<0,04). A los 10 días el grupo VEGF tenía mayor densidad arteriolar (placebo 18,8±5 n/mm²; VEGF 119,8±32,3; p<0,03), menor fibrosis (placebo 70,1±1,7%; VEGF 43,5±4,5%; p<0,006), mayor índice mitótico de miocitos adultos (placebo 62±10 mitosis/10^6 núcleos; VEGF 190±27; p<0,004), y mayor cantidad de mioblastos periinfarto (placebo 529±86 n/mm²; VEGF 1.175±141; p<0,003). El tamaño de infarto fue menor en el grupo VEGF que en el placebo, tanto a los 15 días (11,3±1,3% vs. 18,2±2,1%; p<0,02) como a los 60 días (23,6±1,9% vs. 32,7±2,7%; p<0,02). En el grupo VEGF el engrosamiento parietal sistólico (eco) mejoró de 9,9±3% a 24,8±8,1% (p<0,05) pero no en el grupo placebo (de 9,6±6,2% a 11,4±7,4%; p=NS). Además, la Relación Fuerza-Frecuencia mantuvo su linealidad normal en el grupo VEGF (Pearson's R=0,94; p<0,001) pero no en el placebo (R=0,3; p=NS). Conclusión: en ovejas con IAM, la transfección con pVEGF reduce el tamaño del infarto y mejora la función ventricular regional y global por mecanismos que incluyen la angio-arteriogénesis, la antifibrogénesis y la miogénesis.

POS 01-48

Activación del cotransportador sodio-fosfato en tejido vascular de ratas urémicas. [(1,2)]K. Pino, [(1)] L. Michea, [(1)] I. Bravo, [(1)] ET. Marusic, [(1)] M. Gonzalez. [(1)]Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Universidad Los Andes, Santiago, Chile [(2)] Universidad Católica de Valparaíso, Chile.

Los pacientes con insuficiencia renal crónica (IRC) presentan desarrollo rápido y agresivo de complicaciones cardiovasculares incluyendo calcificación de vasos sanguíneos. La calcificación del músculo liso arterial, requiere captación de fosfato, vía cotransportador sodio-fosfato (NaPi); sin embargo, se desconoce si ocurren alteraciones de NaPi en la uremia. En el presente trabajo se estudió la expresión y actividad del cotransportador sodio-fosfato (NaPiIII) en aorta de ratas urémicas y la potencial participación del receptor de mineralocorticoides (MR), Se estudiaron 3 grupos de ratas**:** control (SHAM), nefrectomía 5/6 (NPX) y ratas NPX con tratamiento con antagonista MR, (NPXspi). Los 2 grupos NPX presentaron hipertensión sistólica y aldosterona plasmática elevada (*P*<0,05 *vs* SHAM). La fosfatemia fue**:** SHAM 6,9±0,2mg/dL; NPX 13,7±0,6mg/dL; NPXspi 13,7±1,7mg/dL (*P*<0,05 *vs* SHAM). La actividad NaPi, en anillos aórticos fue evaluada mediante captación de ^{32}P sensible a arsenato. Se encontró actividad NaPi aumentada al doble en el grupo NPX (SHAM 196±8; NPX 437±128 cpm/mgtejido/10min; *P*<0,05 *vs* SHAM). Espironolactona previno aumento en actividad NaPi (NPXspi 173±38 cpm/mgtejido/10min). En los tres grupos experimentales se cuantificó, en aorta, la abundancia del mRNA de las isoformas de NaPiIII (Pit-1 y Pit-2) mediante PCR tiempo real. Los resultados demostraron aumento significativo en la expresión génica de Pit-1 aórtico en grupo NPX. El mRNA de la isoforma Pit-2 no se modificó. Espironolactona suprimió aumento de mRNA Pit-1 en aorta de ratas nefrectomizadas. Estos resultados indican que en la uremia ocurre una mayor entrada de Pi al tejido arterial, por expresión y actividad aumentadas de Pit-1, que darían cuenta del proceso de calcificación y que en dicho fenómeno estaría implicada la aldosterona. (FONDECYT 1040338 y

FAI MED 002/06)

POS 01-49 El agonista muscarínico pilocarpina activa $IK_{(ACh)}$ de manera dependiente de voltaje en miocitos de aurícula. Eloy Moreno Galindo, Miguel Flores, José Sánchez Chapula y Ricardo Navarro Polanco. CUIB. Universidad de Colima, México.

En el corazón de mamíferos, la activación de los receptores muscarínicos por acetilcolina (ACh) juega un papel muy importante en la regulación inhibitoria de la frecuencia, conducción y contractilidad cardiacas. El mecanismo es la activación de canales de K^+ con rectificación entrante ($K_{(ACh)}$) por receptores muscarínicos M_2 acoplados a proteínas $G_{i/o}$. Trabajos previos en miocitos auriculares han mostrado que pilocarpina, un agonista muscarínico, activa una corriente de K^+ con características dependientes de tiempo y voltaje, que ya se ha demostrado no ser los rectificadores tardíos I_{Kr} e I_{Ks}. Un grupo ha propuesto que se trata de corrientes rectifidoras tardías "nuevas"activadas por receptores M_3 a través de proteínas G_q. Al contrario, nosotros planteamos que se trata de la *activación voltaje-dependiente* de canales K_{ACh} por receptores M_2 a través de proteínas $G_{i/o}$. Con un sistema de perfusión rápida y con fijación de voltaje se registraron corrientes macroscópicas a miocitos de aurícula de gato y a células HEK293 transfectadas con los ADNc del receptor M_2 y de las subunidades K_{ir} 3.1 y 3.4. La activación de la corriente por pilocarpina es prevenida por toxina *pertusis* (inhibidor de proteínas $G_{i/o}$), y disminuida por methoctramina y AF-DX116 (antagonistas M_2), mientras que casi no es afectada por 4-DAMP (antagonista M_3). Esta corriente, también es disminuida por tertiapina (bloqueador altamente específico de los canales K_{ACh}). Curvas concentración-respuesta a diferentes potenciales de membrana muestran que la despolarización incrementa la aparente afinidad de la pilocarpina por el receptor M_2. Nuestros resultados apoyan la noción cada vez más sustentada, con otros modelos experimentales y por otros grupos, de que los receptores muscarínicos (y otros acoplados a proteínas G) son modulados por el voltaje. Apoyos: FRABA a RANP y SEP-CONACyT 2004-47577 a JASCh.

POS 01-50

Perinatal myocardial growth disturbance predisposes for adult development of hypertrophy. E.R. Porrello[1,2], C.L. Curl[1], Angelo D'Amore[2], S.B. Harrap[1], W.G. Thomas[2], L.M.D. Delbridge[1]. [1]Department of Physiology, The University of Melbourne [2]Baker Heart Research Institute, Melbourne, Australia.

The mechanisms underlying neonatal programming of adult diseases remain elusive, and attention has recently focussed on apoptosis as an antecedent of tissue hypertrophy. The Hypertrophic Heart Rat (HHR) displays spontaneous cardiac and cardiomyocyte hypertrophy at maturity, with no hypertension. This study examined the relationship between cardiac AngII receptor (AT) expression levels and neonatal cardiomyocyte growth and apoptotic responses in the HHR compared with the Normal Heart Rat (NHR) control strain. Hearts were freshly isolated from male HHR and NHR. At post-natal day 2, HHR cardiac weight index (CWI) was smaller than NHR (4.33±0.19 vs 5.01±0.08 mg/g, $P<0.05$). Relative to NHR, HHR neonatal hearts exhibited a 4.6-fold higher AT_2/AT_1 mRNA expression ratio. This growth-restricted phenotype was associated with a high bax-1/bcl-2 mRNA expression ratio (50% higher than NHR, $P<0.05$). HHR hearts 'caught-up' to NHR by 4 weeks (5.10±0.15 vs 5.16±0.11 mg/g) and by 12 weeks of age HHR CWIs were 27% larger than NHR ($P<0.01$). Cultured neonatal cardiomyocytes were infected with AT_2 and/or AT_{1A} receptor-expressing adenoviruses. When infected with the AT_{1A} receptor alone, more HHR myocytes underwent apoptosis in response to 0.1 μM AngII than NHR (22.7 ± 4.1% vs 1.1 ± 0.6%, $P < 0.001$). When cells were co-infected with both AT_2 and AT_{1A} (4:1) apoptosis in HHR cells was suppressed (0.4 ± 0.1%). Thus, neonatal cardiac growth restriction, in association with disturbed AngII receptor expression and elevated apoptosis incidence, is a prelude to cardiac hypertrophy at maturity in the HHR. These findings suggest a novel role for the AT_2 receptor in myocardial growth regulation and show that abnormal AngII-mediated cardiac growth in the adult may represent the outcome of disturbed perinatal trophic signalling.

POS 01-51

Relative participation of local and systemic renin-angiotensin system in the left ventricular remodeling after infarction in rats. Micheline M. Resende** and José Geraldo Mill. Departamento de Ciências Fisiológicas, Centro Biomédico da Ufes, Vitória, ES, Brazil.

Purpose: Angiotensin II (AngII) plays an important role on ventricular remodeling after myocardial infarction (MI). AngII generated in the plasma or in the heart may contribute to remodeling. This study was designed to determine the relative contribution of these AngII sources to the cardiac adaptations after MI. Methods: Male albino rats (3 mo) were submitted to left coronary artery ligation to produce MI and control rats to a sham operation (SO). After surgery the animals were randomly assigned to receive a normal or a high-sodium diet (NaCl 1% in drinking water). Hemodynamic parameters were recorded under anesthesia. Arterial blood was collected to assay plasma renin activity (PRA) and angiotensin-converting-enzyme (ACE) activity. ACE activity and AngII levels were also assayed in the left ventricle (LV) and kidneys (KN). Results: Table shows the main observations (expressed as means±sem). Conclusion: Since high salt diet reduced PRA, it is likely that AngII generation in plasma also decreased. High salt intake, however, did not influence ACE activity and AngII in the heart as well as LV remodeling. Therefore remodeling seems to depend more on the AngII generated in the heart than in the plasma. Financial support: CNPq (469050/00-4).

	SO (n=10)	SO-salt(n=13)	MI (n=10)	MI-salt (n=11)
PRA (ng/ml/h)	10.2±2.5	3.6±1.3*	17.1±3.4*	4.4±1.0#
ACE/plasma (nmol/min/ml)	42.3±2.6	38.2±2.8	56.5±4.3*	48.2±4.0

ACE/LV (nmol/min/mg protein)	1.83±0.23	1.52±0.14	3.34±0.35*	3.04±0.55*
ACE/KN (nmol/min/mg protein)	2.63±0.52	2.04±0.23	2.74±0.46	3.11±0.44
AngII/LV (ng/mg protein)	2.42±0.20	3.10±0.16	5.45±0.87*	4.08±0.26
AngII/KN (ng/mg protein)	5.60±0.71	6.02±0.92	10.82±1.80*	7.54±0.62
Mean blood pressure (mmHg)	105±5	115±5	99±4	108±6
LV end-diastolic press (mmHg)	5±2	6±1	14±2*	15±2*
LV +dP/dt (mmHg/s)	5046±150	5973±40	3381±41*	3957±43*
RV/BW (mg/g)	0.46±0.03	0.45±0.2	0.56±0.02	0.60±0.05*
LV/BW (mg/g)	1.99±0.06	2.19±0.05*	2.37±0.05*	2.35±0.10*
Infarct size (% LV surface)	-	-	37±3	35±4

*P<0.05 vs SO; #P<0.05 vs MI

POS 02
Sistema auditivo
Hearing System

POS 02-01

cGMP mediates the Ca^{2+} current inhibition by nitric oxide in vestibular type I hair cells. [1]Angélica Almanza, [2]Francisco Navarrete, [1]Rosario Vega and [1]Enrique Soto. [1]Instituto de Fisiología, [2]Escuela de Biomedicina, Universidad Autónoma de Puebla, México.

Nitric oxide (NO) has been proposed as a retrograde transmitter in the vestibular system and there is enough evidence about the presence of NO/GMP signaling pathway. In type I hair cells NO donors in high concentrations, inhibit the low voltage activated potassium current ($I_{K,L}$), which was proposed as a positive feedback mechanism capable of boosting afferent neurotransmitter release. However, there are considerable evidence about the effects of nitric oxide on voltage-activated Ca^{2+} channels in different cell types. Using the whole and perforated cell patch-clamp technique, we evaluated the action of NO on Ca^{2+} currents in type-I hair cells isolated from semicircular canal crista ampullaris of the rat (P14-18). The NO donors 3-morpholinosydnonimine (SIN-1; 1 and 100 μM), sodium nitroprusside (SNP; 1 and 100 μM) and (±)-(E)-4-Ethyl-2-[(Z)-hydroxyimino]-5-nitro-3-hexen-1-yl-nicotinamide (NOR-4; 1 and 100 μM) inhibited the Ca^{2+} current in type I hair cells. A NO scavenger 2-(4-carboxyphenyl)-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide (CPTIO; 300 μM), prevented the inhibitory effect of SNP (100 μM) on Ca^{2+} current. A selective guanylate cyclase inhibitor: 1H-[1,2,4]Oxadiazolo[4,3-a]quinoxalin-1-one (ODQ; 10 μM) also diminished the SNP induced inhibition of Ca^{2+} current.. SNP effect on Ca^{2+} current was mimicked by a membrane-permeant cGMP analogue 8-Br-cGMP (200 μM and 400 μM). Finally, KT5823 (10 μM), a specific inhibitor of cGK, prevented the inhibition of Ca^{2+} current by 8-Br-cGMP and SNP. These results demonstrated that NO inhibits the voltage-activated Ca^{2+} current in rat vestibular type I hair cells due to the activation of a cGMP signaling pathway. The inhibition of Ca^{2+} current by NO would function as a part of a negative feedback mechanism for hair cell to afferent neuron synaptic transmission. This work was supported by VIEP (grant 20/SAL/06-G) and CONACyT (grant 46511-Q), México.

POS 02-02

Correlación entre neuronas auditivas del colículo inferior y el ritmo theta del hipocampo. Tamara Liberman[(1)], Ricardo A. Velluti[(1)], Marisa Pedemonte[(1,2)]. [(1)]Neurofisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo. [(2)]Fisiología, Facultad de Medicina, CLAEH, Punta del Este. Uruguay.

El hallazgo de correlación temporal, *phase-locking*, de neuronas auditivas con el ritmo theta del hipocampo permitió postular a este ritmo como un organizador temporal de información auditiva. Dicho ritmo es variable dependiendo del estado de comportamiento y atención del animal [1,2]. Se plantea que es posible inducir la correlación de neuronas del núcleo central del CI con el ritmo theta del hipocampo con estímulos auditivos variables capaces de modificar el nivel de atención del animal. Se utilizan cobayos implantados crónicamente para el registro de actividad muscular y del hipocampo, y una micropipeta para registrar la actividad unitaria del CI central en respuesta a estímulos auditivos variables en frecuencia e intensidad. Se observa que en vigilia las variaciones del estímulo provocan *phase-locking* entre las neuronas y el ritmo theta, y mayor sincronización de dicho ritmo, lo cual se mantiene por ~6 segundos. En el sueño lento el *phase-locking* se observó esporádicamente. Estos resultados sugieren que es posible inducir correlación temporal al introducir información "novedosa", aunque en forma distinta en sueño lento y en vigilia. Esto permite suponer que en vigilia el animal es más receptivo a los cambios ambientales que en sueño lento, y que la participación del ritmo theta en el procesamiento de la información es variable según el estado de comportamiento del animal. 1. Pedemonte M, Pérez-Perera L, Peña JL, Velluti RA. (2001) Sleep and Wakefulness Auditory Processing: Cortical Units vs. Hippocampal Theta Rhythm. Sleep Res OnLine, 4(2): 51-57. 2. Pedemonte M, Peña JL, Velluti R. (1996) Firing of Inferior Colliculus Auditory Neuron is Phase-Locked to the Hippocampus Theta Rhythm During Paradoxical Sleep and Waking. Exp Brain Res, 112: 41-46. Parcialmente financiado por Audilux-Fundación Ricaldoni.

POS 02-03

Actividad neuronal del colículo inferior durante el ciclo sueño vigilia en respuesta a vocalizaciones de la especie. Claudia Bentancor[(1)], Marisa Pedemonte[(1,2)], Ricardo A. Velluti[(1)]. [(1)] Neurofisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo. [(2)] Fisiología, Facultad de Medicina, CLAEH, Punta del Este. Uruguay.

Existen extensos antecedentes de que la entrada de información auditiva se procesa durante el sueño. Un cierto porcentaje de neuronas auditivas cambian las características de sus descargas según el momento del ciclo: vigilia (V), sueño lento (SL) o sueño paradójico (SP) (Velluti, 2005). Hemos estudiado la respuesta de

neuronas del colículo inferior estimuladas por un sonido natural, probablemente significativo, en diferentes estados de sueño. Se usaron cobayos, "crónicos", implantados con electrodos para control del comportamiento. En las sesiones de registro se descendió una micropipeta de vidrio a nivel del colículo para registro de la actividad neuronal extracelular. El estímulo consistió en vocalizaciones de un co-específico (700 ms) grabadas previamente y emitidas al cobayo en dos formas: 1) directa, 2) invertida en el tiempo. En V las neuronas mostraron diferencias en el histograma peri-estímulo- en la distribución temporal de las descargas así como en su número- según las vocalizaciones se presentaran en forma directa o invertida en el tiempo. Las respuestas fueron siempre mayores en número de descargas respondiendo a la vocalización directa. Al pasar al SL disminuyeron las descargas neuronales tanto con el estímulo directo como frente al invertido, aunque se mantuvieron las diferencias entre las respuestas a las dos formas de estimulación. Es decir, la neurona auditiva en SL reconoce las diferencias entre ambas estimulaciones. Estos resultados demuestran una vez más que el procesamiento de la información auditiva es diferente durante la V y el SL pero está seguramente presente también en este último estado. *Velluti, R.A. (2005) Remarks on sensory neurophysiological mechanisms participating in active sleep processes. In: PL Parmeggiani, RA Velluti (Eds)* The Physiologic Nature of Sleep. *Im perial College Press(London) pp. 247-266.*

POS 02-04

Electrophysiological phenotype of auditory hair cells in α10 knockout mice. Jimena Ballestero[1], María Eugenia Gómez-Casati[1], Julián Taranda[1], Marcela Lipovsek[1], Jessica Savino[1], Douglas Vetter[2], Jim Boulter[3], Belén Elgoyhen[1], Eleonora Katz[1] 1 INGEBI-CONICET, UBA, Argentina; 2 Tufts Univ. USA; 3 UCLA, USA.

In the Organ of Corti, the sensory epithelia of the of the auditory system, hair cells transduce sound stimuli into electrical signals. Hair cell function is modulated by efferent cholinergic olivocochlear (OC) fibers. This synapse is inhibitory and mediated by the α9α10 nicotinic receptor and the subsequent activation of Ca^{2+}-activated K^+ channels (SK). We have recently generated an α10 'knockout' mouse to assess the role of the α10 gene in the development and function of the OC system. Functional studies performed on this animal showed that stimulation of OC fibers produces an enhancement of OHC function rather than the suppression or the lack of response observed in wildtype and α9 'knockout' mice, respectively. We evaluated the presence of cholinergic currents in inner hair cells (IHCs) at postnatal ages (P) P8-P9 and in outer hair cells (OHCs) at P10-P12 and also characterized their voltage-gated currents during development. Whole cell recordings were performed in hair cells of α10 'knockout'(-/-) mice and their heterozygous(+/-) and wildtype(+/+) littermates. We found no evidence of acetylcholine (ACh)-evoked currents in IHCs of (-/-) mice whereas small currents were detected in ~50% of OHCs. Neither OHCs nor IHCs from (-/-) mice presented K^+-induced synaptic currents. In contrast, (+/-) and (+/+) mice showed robust ACh-evoked currents and K^+-induced synaptic activity. No differences were found in the amplitude, voltage sensitivity, reversal potential and activation kinetics of K^+-currents in IHCs from (-/-) mice. The presence of cholinergic currents in OHCs of α10 (-/-) mice suggests that the α9 subunit could be functioning as an homomeric receptor in these cells. The lack of the α10 subunit together with the activity of α9 homomeric receptors poorly or not coupled to SK channels could explain the anomalous behavior of the OC system.

POS 02-05

Effects of efferent fibers activation in auditory nerve compound action potential and cochlear microphonics in the chinchilla. Diego Elgueda[1,2], Paul H. Delano[2] and Luis Robles[2]. [1] Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, [2] Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

There are two types of receptor cells in the mammalian cochlea, inner hair cells, innervated by auditory nerve afferent fibers, and outer hair cells, which receive a significant efferent innervation from the brainstem. In spite of their anatomical importance, the function of these efferent fibers remains unknown. The effect of electrical activation of these efferents has been studied only in guinea pigs and cats. However, due to anatomical differences in the distribution of cochlear efferent fibers in the different species, it is important to evaluate this effect in the chinchilla. We activated olivocochlear efferent fibers in 24 chinchillas, applying current pulses on the fourth-ventricle floor through a bipolar electrode. Compound action potential (CAP) and cochlear microphonics (CM) were acquired in response to clicks and tones of different frequencies. Electrical efferent stimulation produced CAP-amplitude reductions, reaching up to 12 dB, which were higher for low to moderate sound levels and were also higher for larger current pulses. In addition, efferent stimulation produced concomitant CM amplitude increments, which were greater for tones of low frequencies and low levels. The CM increments (≤ 2.5 dB) were of smaller magnitude than the CAP reductions. We also found CAP-latency increments that were not equivalent to simple decreases in sound level, and CM-phase changes that were larger at low intensity tones. These results provide relevant information about the efferent control of sensitivity in the chinchilla cochlea. Supported by FONDECYT 1020970, Fundación Puelma.

POS 02- 06

Modulación cortical de las respuestas cocleares a estímulos auditivos. Hamamé, CM, Délano, PH y Robles L. Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago.

La cóclea, órgano sensorial auditivo, tiene dos tipos de

células receptoras, las células ciliadas internas (CCI) y las externas (CCE). Las CCI se encuentran ordenadas en una fila única y tienen contacto sináptico con las neuronas ganglionares cuyas fibras conforman el nervio auditivo y el comienzo de la vía aferente auditiva. Las CCE, en cambio, están dispuestas en tres filas más laterales y reciben grandes terminales eferentes, teniendo escasos contactos sinápticos aferentes. El sistema eferente auditivo ha sido clásicamente descrito como las eferencias provenientes desde el núcleo superior de la oliva y que establecen sinapsis directamente sobre células de la cóclea. Sin embargo existen evidencias anatómicas que sugieren que las vías eferentes auditivas se originan en la corteza auditiva primaria. En el presente estudio se utilizaron 8 chinchillas adultas. Se registró el potencial de acción compuesto del nervio auditivo (CAP) y el potencial microfónico coclear (CM) por medio de un electrodo colocado en la ventana redonda de la cóclea. Se inactivó la corteza auditiva contralateral a la cóclea registrada con una microinyección de lidocaína y se verificó la inactivación cortical midiendo la respuesta electrofisiológica de la corteza auditiva a clics. La inactivación cortical provocó efectos heterogéneos en los diferentes animales que incluyeron tanto aumentos como disminuciones de las amplitudes del CAP y del CM. Esto muestra que existe una modulación tónica de la corteza auditiva sobre las respuestas cocleares a través del sistema eferente. Financiado por Fundación Puelma.

POS 02- 07

Efectos del ruido y gentamicina sobre potenciales cocleares en chinchilla y cobayo. E.Pavez[1], D. Drexler[2], PH. Délano[1], M. Pedemonte[2], A. Falconi[2], L. Robles[1], RA Velluti[2]. 1. Programa de Fisiología y Biofísica, ICBM, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Santiago. 2. Neurofisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo.

Se estudió el efecto de la exposición a un ruido de alta intensidad sobre los potenciales microfónicos cocleares (CM) y el potencial de acción compuesto del nervio auditivo (CAP) en 12 chinchillas y 9 cobayos. Para verificar si el efecto producido fue mediado por el sistema eferente olivococlear medial, se bloqueó su actividad administrando gentamicina (150 mg/Kg, IP, dosis única). Con un electrodo implantado en la ventana redonda, se registraron los potenciales cocleares en animales despiertos, con movimientos restringidos. Se obtuvieron las respuestas antes y después de la exposición a un ruido ipsilateral de banda ancha (90, 100 o 110 dB SPL por 30 s) y se comparó el efecto del ruido en la condición control (sin gentamicina) y después de administrar gentamicina. En la condición control, el ruido provocó disminución de la amplitud de ambos potenciales (CM y CAP) y en la condición post-gentamicina dicha disminución fue significativamente menor que en la condición control, en ambas especies. Trabajos previos en cobayo habían mostrado un bloqueo completo de la acción del ruido sobre el CM post-getamicina [(1)]. Estos resultados sugieren que un ruido de alta intensidad, que afecta a los potenciales cocleares estudiados, ejerce influencias centrales a través del sistema eferente olivococlear medial. [(1)]Pedemonte, Drexler, Velluti. Hearing. Res. 194 (2004) 25-30. Investigación parcialmente financiada por Proyecto de Cooperación bilateral CONICYT/MEC

POS 02-08

Brainstem glycinergic synaptic ouput in a familial hemiplegic migraine mouse model. Bárbara Giugovaz Tropper[1], Arn M.J.M van den Maagdenberg[2], Rune R. Frants[2], Michel D. Ferrari[3] and Osvaldo Uchitel[1]. [1]Inst. Fisiología, Biología Molecular y Neurociencieas.CONICET.Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Argentina. [2]Dep. of Human Genetics & Neurology and [3]Dep. of Neurology, Leiden University Medical Centre, Leiden, The Netherlands.

Synaptic transmission at peripherical and central mammalian nervous system is mediated predominantly by Cav2.1 (P/Q-type) calcium channels. Familial hemiplegic migraine type-1 (FHM1) is a Mendelian subtype of migraine with aura that is caused by missense mutations in the CACNA1A gene that encodes the pore-forming α1 subunit of voltage-gated neuronal Cav2.1. Ca^{2+} channels knockin (KI) transgenic mice with the pathogenic FHM1 human mutation R192Q in the CACNA1A gene (van den Maagdenberg et al., 2004, Neuron 41:701-10) were used to study the properties of synaptic transmission in the glicinergic synapses between the medial nucleus of the trapezoid body (MNTB) and the lateral superior olive (LSO). We used whole cell voltage clamp technique to record spontaneous and evoked inhibitory postsynaptic currents (IPSCs). Pharmacological studies of voltage dependent calcium channels involved in synaptic transmission show similar contribution of P/Q and N-type Ca^{2+} channels and small but significant contribution from L-, and R-type Ca^{2+} channels. No differences were observed in the stimulus intensity vs. synaptic output. The kinetics of synaptic depression at 10 and 20 Hz were similar but the rate of recovery from synaptic depression was faster in KI mice than in WT. This difference in the recovery rate may result in disruption of well-balanced neuronal networks.

POS 03
Canales y Trasportadores de Membrana
Membrane channels and transporters

POS 03-01

Variación estacional de la energía de activación del transporte de sodio en piel de sapo. Andrea Bagdadi, Nadia Orona, Aníbal Altamirano y Carlos Amorena. Escuela de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Gral. San Martín, Provincia de Buenos Aires, Argentina.

El transporte transepitelial de sodio (Na^+) en anfibios puede ser descripto por una conductancia en serie con una fuente de corriente, que corresponde a la bomba de Na^+. El proceso de entrada de Na^+ es pasivo (bajo niveles de energía de activación, E_a), en tanto que la salida hacia el lado basolateral es efectuada con consumo de ATP (E_a alta). El análisis del transporte de Na^+ mediante corrientes de cortocircuito (I_{cc}) implica tratar a estos dos sistemas como una "caja negra". El objeto de este trabajo fue evaluar 1) la E_a del transporte de Na^+ medida como I_{cc} en piel entera, y 2), como los anfibios (poiquilotermos) muestran variaciones estacionales en sus procesos fisiológicos, evaluamos las variaciones estacionales (invierno-verano) de la E_a del transporte de Na^+. La I_{cc} se midió de manera clásica, en cámara de Ussing. Se analizó la cinética del transporte de Na^+ aumentando [Na^+] en el lado apical, de 14 a 150 mM, en pasos discretos, y se ajustaron los valores de I_{cc} a una cinética michaeliana, determinándose V_{max} y K_m. Los valores de V_{max} (en Moles$\times cm^{-2} \times seg^{-1}$) fueron $8{,}74\times10^{-10}\pm1{,}28\times10^{-10}$ en verano, y $7{,}87\times10^{-10}\pm1{,}11\times10^{-10}$ en invierno. El valor de K_m. no fue significativamente diferente. Las determinaciones se efectuaron en el ran-go de temperaturas entre 7 y 36 °C. Los valores de E_a observados (en kJ$\times Mol^{-1}$) fueron -19±2,7 (n=4) en invierno, y -39±3,6 en verano (n=6) ($P<0{,}05$). La pendiente de la variación de V_{max} en función de la temperatura (en Mol$\times°C^{-1}\times cm^{-2} \times seg^{-1}$) fue $53\times10^{-12}\pm9\times10^{-12}$ en verano, y $28\times10^{-12}\pm5\times10^{-12}$ en invierno ($P<0{,}05$). Los valores de E_a tanto en verano como en invierno son bajos, sugiriendo que el proceso limitante del transporte transepitelial de Na^+ es el componente pasivo de entrada de Na^+ por la membrana apical. La E_a en animales en verano es más alta que en invierno, lo que sugiere que en verano aparece un compo-nente que afecta el flujo difusional.

POS 03-02

Reversible blockade of voltage-activated sodium conductance by terpenoids. [1]João Luis Carvalho-de-Souza; [2]José Henrique Leal-Cardoso. [1]Antônio Carlos Cassola. [1]Lab Eletrofisiologia, Fisiologia e Biofísica, ICB/USP, São Paulo/SP, Brazil; [2]Lab Eletrofisiologia, ISCB/UECE, Fortaleza/CE, Brazil.

Terpenoids are components of essential oils of some plants. Many of them have biological effects. Eugenol (1-hydroxy-2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol), for instance, is used in odontologic clinic as an analgesic but the mechanisms of the effect are unclear. The hypothesis of an inhibitory effect on voltage gated sodium channels was set forth and confirmed. Furthermore, we are amassing data relating structure and sodium channel blocking potency. Macroscopic sodium currents passing through voltage-gated channels were recorded in the sensory neurons from newborn rats through whole-cell configuration of the patch clamp technique. Sodium currents were elicited by depolarizing pulses from a negative holding potential. Eugenol blocks sodium currents fast and reversibly. In a dose-response study, the IC_{50} for the block of currents was 3,35 ± 0,15 mM (n=6). The dissociation constant, estimated from k_{on} e k_{off} of the binding reaction, was 1,32 ± 0,20 mM (n=6). Evaluation of the stationary activation of the conductance reveals a tonic block of the channel by eugenol. The blocking effect is mostly due to drug binding to the closed state of the channel. No effects in the activation or inactivation kinetics of the channel were observed. The terpenoid does not modify the kinetics of recovery from inactivation state. Stationary inactivation was shift to the left by -12,4 ± 1,5 mV (n=12). A weak frequency dependence of the inhibitory effect was observed. These last findings suggest that eugenol also binds to the inactivated state of the protein. The modification in the phenolic ring **-** a removal in the hydroxyl group as in estragole **-** does not change the affinity binding. Eugenol blocks fast and reversibly voltage-gated sodium channels in neurons. The affinity is low, in the range of mM. The inhibitory effect is partially accomplished by drug binding to the closed state, resulting in a tonic block, and partially by binding to the inactivated state.

POS 03-03

Técnica MIFE en monitoreo y farmacología de flujos de potasio en las fases tempranas de apoptosis en linfocitos. Oxana Dobrovinskaya, Sergey Shabala, Georgina Valencia-Cruz, Lana Shabala, Igor Pottosin, Centro Universitario de Investigaciones Biomedicas, Universidad de Colima, Mexico, y Universidad de Tasmania, Australia.

La apoptosis es un proceso altamente conservado que ocurre en organismos multicelulares. En años recientes, ha sido hipotetizado que la salida excesiva de K+ del espacio intracelular hacia el espacio extracelular es un requerimiento absoluto para la apoptosis, la cual altera

la homeostasis iónica creando un ambiente intracelular que favorece la activación y ejecución coordinada de la apoptosis. Sin embargo, la disminución de potasio intracelular ha sido registrada solamente en las etapas tardías de la apoptosis sin monitorear su dinámica en el tiempo real. El mantenimiento de las concentraciones fisiológicas de potasio es un mecanismo complejo, que involucra diferentes canales de potasio y la bomba Na+/K+. La única técnica no-invasora que permite monitorear los flujos iónicos a través de la membrana plasmática sin afectar su integridad es MIFE (Microelectrod Ion Flux Estimation), desarrollada en la Universidad de Tasmania. Adaptamos esta técnica novedosa para mediciones en células mamíferas. Usando los electrodos selectivos de potasio, realizamos monitoreo de los flujos de potasio en células Jurkat tratadas con los estímulos apoptóticos de la ruta extrínseca (anticuerpos monoclonales contra receptor CD95) e intrínseca (estaurosporina), durante la primera hora después del estímulo. La aplicación de bloqueadores específicos de diferentes canales de K+ (dependientes de voltaje Kv1.3, dependientes de calcio (SK2), y de doble poro) y los inhibidores de la ATPasa Na+/K+ nos permitió determinar el papel de cada uno de los componentes en diferentes fases de la apoptosis. En paralelo, usamos los mismos bloqueadores para los ensayos de la actividad de caspasas en diferentes tiempos del proceso apoptótico.

POS 03-04

Dynamic regulation of Na^+/H^+ exchange (NHE_1 isoform) by Angiotensin II and PKC in kidney cells. Ferreira-Figueiredo[1], C. S. R., Mello-Aires, M[1] and Oliveira-Souza, Maria[1]. [1]Department of Physiology and Biophysics, Instituto de Ciências Biomédicas, University of São Paulo, SP, Brazil.

The effect of angiotensin II (ANG II) on NHE_1 activity have been investigated in Madin-Darby canine kidney (MDCK) cells. The NHE_1 activity was evaluated by cellular pH (pHi) regulation in the first 2 minutes after intracellular acidification by NH_4Cl. pHi was measured by fluorescence microscopy using the probe BCECF/AM, during superfusion with NaCl Ringer or Na^+-free solution. In the control situation, the pHi recovery rate was 0.183 ± 0.017 pH units/min (n=60). In the absence of extracellular Na^+, this value decreased to 0.044 ± 0.03 pH units/min (n = 10). ANG II (10^{-9} M) increased the pHi recovery rate to 0.380 ± 0.02 pH units/min (n=15). On the other hand, ANG II (10^{-6} M) did not affect the pHi recovery rate [0.178 ± 0.01 pH units/min (n=14)]. GÖ 6976 (10^{-5} M - a PKCα inhibitor) impaired the stimulatory ANG II (10^{-9} M) effect [0.179 ± 0.02 pH units/min (n=15)] but not affect ANG II (10^{-6} M) effect [0.172 ± 0.01 pH units/min (n=12)]. Dimethyl-BAPTA/AM (50 μM) impaired the stimulatory ANG II (10^{-9} M) effect [0.247 ± 0.02 pH units/min (n=9)] and increased ANG II (10^{-6} M) effect [0.270 ± 0.01 pH units/min (n=7)]. These findings were confirmed by Western bloting and immunolocalization with isoform specific antibodies to NHE1 and PKC alpha. These results suggest that in MDCK cells the short-term effects of ANG II on NHE1 activity are mediated by PKC alpha and cytosolic calcium.

POS 03-05

Glucose sensitivity of ATP-sensitive potassium channels in hippocampal neurons from diabetic rats. Armando Obregón-Herrera[1,3], Sergio Márquez-Gamiño[2], Carlos G. Onetti[1] [1]Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Colima, [2]Cuerpo Académico de Estudios del Sistema Nervioso, Instituto de Investigación Sobre el Trabajo, y [3]Instituto de Investigación en Biología Experimental, Facultad de Química, Universidad de Guanajuato, México.

The effect of glucose and adenine nucleotides on ATP-sensitive potassium (K_{ATP}) channels from CA3 hippocampal rat neurons was studied using patch-clamp technique, both in diabetic and non-diabetic rats. External glucose (20 mM), totally abolished K_{ATP} activity in control hippocampal neurons. Nevertheless, glucose up to 50 mM, in diabetic neurons significant changes were not observed. Other than, 1 mM ATP totally blocked the K_{ATP} channels in control as well as in diabetic neurons. The open probability exhibited ATP concentration dependence. ATP half-blocking (K_D) values for K_{ATP} channels, were 0.25 and 0.59 mM in control and diabetic neurons, and Hill coefficient (h) values were 2.4 and 2.1, respectively. In addition, glibenclamide (100 μM) suppressed the channel activity, both in control and diabetic hippocampal neurons. The single-channel conductance values from diabetic (177.4 pS) and control neurons (178.5 pS) were similar. However, a small inward rectification was observed in control neurons, but not in diabetic cells. The open probability for K_{ATP} channels was voltage dependent in control as well as in diabetic neurons. In control hippocampal neurons, the half-activation membrane potential ($V_{0.5}$) and k values were 2.1 mV and 11.1 mV, respectively. In diabetic neurons, similar values for $V_{0.5}$ (5.3 mV) and k 11.2 mV) are found. Lack of glucose K_{ATP} channel activity inhibition, in hippocampal diabetic neurons, could be due to sensitivity reduction of K_{ATP} channel to ATP. However, we could not discard inability of the neurons to introduce glucose into their cytoplasm or to alterations in the metabolic routes that prevent the ATP synthesis.

POS 03-06

C-Terminal domain determines thermosensation in transient receptor potential channels. Gerardo Orta, Sebastian Brauchi, Marcelo Salazar, Eduardo Rosenmann, and Ramon Latorre. Laboratorio de Biofísica y Fisiología Molecular, Centro de Estudios Científicos, Valdivia, Chile.

The abilities to sense environmental and internal temperatures are requiered for survival, both for maintenance of homeostasis and for avoidance of tissue-damaging noxious temperatures. Temperature transduction in mammals is possible because of the presence of a set of temperature-dependent transient receptor potential

(TRP) channels in dorsal root ganglia neurons and skin cells. Six thermo-TRP channels, all characterized by their unusually high temperature sensitivity (Q10>10), have been cloned: TRPV1-4 are heat activated, whereas TRPM8 and TRPA1 are activated by cold. Because of the lack of structural information, the molecular basis for regulation by temperature remains unknown. In this study, we assessed the role of the C-terminal domain of termo-TRPs and its involvement in thermal activation by using chimeras between the heat receptor TRPV1 and the cold receptor TRPM8, in which the entire C-terminal domain was switched. Here, we demonstrate that the C-terminal domain is modular and confers the channel phenotype regarding temperature sensitivity, channel gating kinetics, and PIP_2 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate) modulation.
Analysis of these chimeras indicated that activation by temperature involves a gating mechanism distinct and separable from gating by menthol, voltage or PIP_2. Notably, thermo-TRP channels contain an interchangeable specific region, different from the voltage sensor, which allows them to sense temperature stimuli. This work was supported by funds from Fondo Nacional de Investigación Científica y Tecnológica 103-0830 and 3060003.

POS 03-07

Influencia de la expresión relativa de Mrp2 vs. Mrp3 sobre el transporte hepático de un sustrato común a ambos transportadores. María Laura Ruiz, Silvina Villanueva, Marcelo Luquita, J Elena Ochoa, Aldo Mottino y Viviana Catania. IFISE-CONICET, Fac. Cs. Bioq. y Farm. (UNR), Argentina.

En trabajos previos observamos que etinilestradiol (EE) disminuye el contenido de Mrp2 (canalicular) y aumenta el de Mrp3 (basolateral), y que espironolactona (SL) incrementa el contenido de Mrp2 sin afectar el de Mrp3. Objetivo: evaluar la implicancia funcional de la inducción diferencial de dichos transportadores. Metodología: ratas Wistar macho adultas (n=4-6) recibieron EE (5mg/kg/día, 5 días, s.c.), o SL (200µmoles/kg/día, 3 días, i.p.), o ambos (EE+SL; SL los 3 últimos días de tratamiento con EE). Los controles (C) recibieron propilenglicol (vehículo de EE y SL) 3 ó 5 días y se unificaron para el análisis. En hígado aislado y perfundido se evaluó la excreción a bilis y a perfusato (en nmol/g hígado en 60 min) de un sustrato común a ambos transportadores: el glucurónido de paracetamol (glu-P) generado endógenamente a partir de paracetamol. Se cuantificó por inmunoblotting el contenido de Mrp2, Mrp3 y de las UDP-glucuronosiltransferasas (UGTs) involucradas en la generación de glu-P, además de su actividad. Resultados: en los grupos SL y EE+SL se detectó inducción de las UGTs (+100%). Se calculó la relación excreción biliar/excreción a perfusato (que independiza de la síntesis del glucurónido) y fue menor en EE (0.07±0.01) y en EE+SL (0.26±0.12) y mayor en SL (0.77±0.15) con respecto a C (0.57±0.10; media±DE; diferencias significativas respecto a C; $p<0.05$). Mrp2 disminuyó en EE (-42%), y aumentó en SL (+60%) y EE+SL (+40%). Mrp3 aumentó en EE (+200%) y en EE+SL (+260%) y no varió en SL. Conclusión: Independientemente de los cambios en la expresión de Mrp2, la inducción de Mrp3 aumentó el eflujo basolateral de glu-P. Así, el cambio en la expresión relativa de transportadores hepáticos basolaterales vs. canaliculares altera la normal transferencia (sangre-bilis) de endo- y xenobióticos.

POS 03-08

O efeito da angiotensina II (ANG II) sobre a regulação do pH intracelular (pHi) é mediado pela translocação do receptor AT1. Karina Thieme[1] e Maria Oliveira de Souza[1]. [1]Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

O controle do pH intracelular (pHi) é fundamental para a manutenção de muitos processos bioquímicos celulares. A ANG II, via interação com os receptores AT1 ou AT2, participa desse controle por modular a atividade da isoforma 1 do trocador Na+/H+ (NHE1), proteína importante na regulação do pHi, após um pulso ácido. O objetivo de nosso trabalho é avaliar se o efeito da ANG II sobre o NHE1 está relacionado com a translocação do receptor AT1. A atividade do NHE1 é avaliada por medidas de pHi através de microscopia de fluorescência e o deslocamento do receptor AT1, por microscopia confocal e western blot. Inicialmente, extraimos o receptor AT1 das células T84, derivadas de cólon humano (hAT1), pela técnica de RT-PCR. Em seguida, o hAT1 foi sequenciado e clonado no vetor de expressão pEGFP-N1. Atualmente, o recombinante fluorescente pEGFP-N1/hAT1 está sendo expresso em células MDCK, derivadas de rim de cão, as quais já possuem o NHE1 endógeno. Nossos resultados preliminares indicam sucesso no processos de expressão, uma vez que, medidas de fluorescência revelam a presença do complexo pEGFP-N1/hAT1 nas células MDCK. Os estudos funcionais serão realizados na vigência de ANG II (10-12 ou 10-6 M) e/ou BAPTA-AM, quelante de cálcio citosólico (10-5 M).

POS 03-09

Renal sodium-glucose cotransporter (SGLT2) activity and aquaporin-2 (AQP2) expression in rat kidney during chronic nitric oxide synthase inhibition. M.F. Albertoni Borghese, M.P. Majowicz, M.C. Ortiz, N.B. Sterin Speziale, R.G. Fiorenzano, R Passalacqua and N.A. Vidal. Cátedra de Biología Celular, Depto de Ciencias Biológicas, Fac de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

The aim of this study was: 1) To determine SGLT2 activity in a model of hypertension induced by administration of L-NAME in rats during 6 (H6) or 12 (H12) weeks; 2) To test if changes in SGLT2 activity are due to modifications in the lipid environment of this transporter; 3) To asses the level of AQP2 expression in this

experimental model; 4) To verify if changes in the activity and/or expression of the transporters have a correlation with functional renal parameters. SGLT2 ∝-^{14}C-methylglucose active uptake was inhibited in H6 and H12 (2.219 ± 0.407** and 2.705 ± 0.930* respectively vs. 5.049 ± 1.040 nmol/mg protein/minute in control (N)). This inhibition was not due to a decrease in SGLT2 expression nor mediated by changes in membrane phospholipid composition. AQP2 expression measured by immunohystochemistry (marked cells/field of 20 fields; magnification x1000) was gradually decreased in the kidneys of L-NAME treated animals. In H6, AQP2 expression only diminished in inner medulla (IM) (20.28 ± 3.92*** vs. 33.25 ± 1.92) compared with N6, meanwhile in H12 diminished both in outer (OM) (9.80 ± 0.97*** vs. 20.91 ± 2.25) and IM (14.1 ± 1.8** vs. 22.86 ± 1.4) compared with N12. Results were confirmed by immunoblotting. This reduced expression of AQP2 channels may partially account for the increased urinary volume and decreased urinary osmolality in H12, since we obtained a very good correlation between AQP2 expression in OM and IM and urinary volume and osmolality. Results represent mean ± SEM of at least five independent experiments. ***p<0.005; ** p<0.01; *p<0.05. In summary, we propose that in hypertensive rats induced by 6 or 12 weeks of L-NAME treatment, SGLT2 activity and AQP2 expression are modified to compensate high levels of arterial pressure.

POS 03-10

Abundancia de los canales AQP2: efecto del óxido nítrico renal en ratas anestesiadas sometidas a una hemorragia aguda. Canil A; Netti V; Arreche N; Casanova N; Zornada F; Fellet A, Arranz C, Balaszczuk AM. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina.

La participación del sistema del óxido nítrico (NO) en la modulación de la abundancia de canales de agua regulados por vasopresina en el nefrón durante el estado hipovolémico es poco conocida. **Objetivo:** estudiar el efecto del NO renal sobre la expresión y translocación a membrana de acuaporinas 2 (AQP2) en los túbulos colectores de ratas sometidas a una hemorragia del 20% de la volemia. **Grupos de animales:** C=control, H=hemorragia, L=infusión de L-NAME (50µg/kg/min), HL=infusión de L-NAME + hemorragia. Los cuatro grupos de animales fueron sacrificados a los 120 minutos de realizado el sangrado y se extrajeron los riñones para evaluar la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) (técnica NADPH diaforasa) en los grupos C y H, y la abundancia de AQP2 (técnica inmunohistoquímica) en todos los grupos. **Resultados:** La hemorragia: a) aumentó la actividad de NOS en médula (C=0.311±0.010, H=0.360±0.008*; *p<0.001 vs C) y en papila renal (C=0.313±0.007, H=0.387±0.003*; *p<0.001 vs C); b) no modificó la abundancia de AQP2 en el túbulo colector comparado con C (Médula H=9.60±1.64, C=10.30±1.76; Papila H=25.06±3.49, C=23.55±2.31; p=ns). En el grupo HL, aumentó la expresión de AQP2 tanto en médula como en papila renal comparado con L (Médula L = 4.85 ± 0.95, HL = 7.80 ± 0.60*; Papila L = 17.55 ± 1.16, HL = 23.00 ± 1.78*; *p<0.001 vs controles). **Conclusión:** el sistema del NO tendría un efecto negativo sobre la expresión y translocación a membrana de AQP2 en los túbulos colectores renales, sugiriendo una relación entre el NO renal y la acción antidurética de la vasopresina durante el estado hipovolémico.

POS 03-11

Bloqueo directo del endocanabinoide anandamida sobre el canal de potasio hKv1.5 Gabriel Barrio, Miguel Flores, José Sánchez Chapula, Ricardo Navarro Polanco. CUIB. Universidad de Colima, México.

El endocanabinode anandamida ha sido propuesto como un mensajero retrogrado extracelular, el cual regula la excitabilidad de las neuronas a través de la activación de los receptores CB1 e inhibiendo así, la liberación de neurotransmisores. Además del efecto a través de receptores, varios grupos han reportado que anandamida puede ejercer efectos de manera independiente de receptor. La mayoría de dichos efectos incluyen una modulación directa de canales iónicos de potasio y calcio. Se ha sugerido que el efecto directo de los endocanabinoides puede ser extracelular (Honore, et al., 1994) o intramembranal (Oliver, et al., 2004). Sin embargo en nuestros trabajos anteriores hemos reportado algunas evidencias con las cuales proponemos que anandamida actúa como bloqueador de canal abierto sobre el canal hKv1.5. En el presente trabajo presentamos evidencias adicionales en este mismo sentido que permiten darle mayor soporte a esta hipótesis. Para los registros de corrientes macroscópicas se utilizó la técnica de patch clamp en las configuraciones de célula completa y de parche escindido (inside-out). Nuestros resultados muestran que anandamida no presenta un bloqueo dependiente de voltaje y que este endocanabinoide actúa desde la región citoplasmática, teniendo una posible interacción con los aminoácidos ubicados en el poro de conducción, siendo estos el posible receptor molecular. Apoyado por SEP-CONACyT proyecto No. 2004-47577

POS 03-12

La hormona ouabaína estimula la proliferación de células epiteliales de riñón poliquístico humano a través de la Na,K-ATPasa y el sistema de kinasas MEK-ERK. Gustavo Blanco, Anh-Nguyet T. Nguyen, Gladis Sánchez, Department of Molecular and Integrative Physiology, University of Kansas Medical Center, Kansas City, KS, USA.

La hormona ouabaína, a través de su receptor la Na,K-ATPasa induce proliferación en ciertos tipos celulares. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de ouabaína en células epiteliales renales provenientes de riñones humanos con enfermedad poliquística renal autosómica dominante (células ADPKD). Ouabaína en concentraciones nanomolares, similares a aquellas pre-

sentes en la circulación sanguínea, estimuló el crecimiento de células ADPKD, incrementando el número y el índice mitótico de las células. Por el contrario, ouabaína no afectó el crecimiento de células epiteliales de riñones humanos normales (células NHK). Además, en células ADPKD, ouabaína indujo fosforilación de la kinasa ERK solamente cuando la hormona se aplicó en la superficie basolateral de las células, donde la Na,K-ATPasa se localiza. U0126, un inhibidor de la kinasa MEK, bloqueó la proliferación celular y la fosforilación de ERK inducidas por ouabaína. Ensayos enzimáticos de dosis respuesta de inhibición de la actividad Na,K-ATPasa por ouabaína mostraron que aproximadamente un 20% de la Na,K-ATPasa de células ADPKD presenta un incremento en la afinidad por ouabaína. Esto en cambio no se observó en celulas NHK. La afinidad anormal de las células ADPKD por ouabaína no se debe a cambios en la expresión de de las isoformas de la Na,K-ATPasa, ya que estas células, al igual que las NHK, solo expresan las subunidades □1 y □1 de la enzima. Nuestros resultados demuestran que la hormona ouabaína uniéndose con alta afinidad a la Na,K-ATPasa, activa el sistema de señales MEK-ERK y estimula el crecimiento de células ADPKD. Esto sugiere que ouabaína juega un rol en la fisiopatología de la enfermedad poliquística renal autosómica dominante.

POS 03-13

Expresión molecular y funcional de aquaporina-8 en membrana canalicular de hepatocitos con colestasis inducida por estrógenos. Flavia I. Carreras, Guillermo L. Lehmann, Raúl A. Marinelli. Instituto de Fisiología Experimental, CONICET, Universidad Nacional de Rosario.

El canal de agua aquaporina-8 (AQP8) facilita el transporte de agua a través de la membrana canalicular del hepatocito durante la formación de la bilis. Nuestros estudios recientes indican que en un cuadro de disfunción secretora biliar (i.e. la colestasis hepatocelular inducida por estrógenos) la expresión hepática de AQP8 está disminuida. Los **objetivos** de este trabajo son estudiar, en ratas con colestasis inducida por estrógenos, (i) la expresión molecular y funcional de AQP8 directamente en membrana hepática canalicular y (ii) los mecanismos de disminución de la expresión de AQP8. **Metodología y Resultados**: La colestasis fue producida por la administración del estrógeno etinilestradiol (EE) (5 mg/kg p.c., s.c.) durante 5 días. Se prepararon membranas canaliculares altamente purificadas por fraccionamiento subcelular y ultracentrifugación en gradientes de sacarosa. Por inmunobloting, se encontró la AQP8 significativamente disminuida (-60%; $P<0,05$; n=3). La permeabilidad osmótica al agua de la membrana canalicular (P_f), medida por espectrofotometría de *stopped-flow*, también disminuyó en colestasis (P_f = 73 ± 1 vs. 57 ± 2 $\mu m.sec^{-1}$; $P<0,05$; n=3). En el hígado de ratas tratadas con EE, el ARNm de AQP8, medido por Northern blot, aumentó significativamente un 115%, sugiriendo una regulación postranscripcional. Conforme a esto, en hepatocitos en cultivo primario, el tratamiento con el inhibidor lisosomal leupeptin previno completamente la disminución proteica de AQP8 inducida por estrógenos. **Conclusión:** la colestasis por EE disminuyó la expresión de AQP8 en la membrana canalicular, posiblemente mediante degradación lisosomal. La expresión defectuosa de AQP8 canalicular está asociada a una disminución en la permeabilidad al agua de la membrana. La expresión canalicular defectuosa de AQP8 contribuiría a la disfunción secretora biliar de los hepatocitos en la colestasis hepatocelular inducida por estrógenos.

POS 03-14

Muscarinic and peptidergic modulation of a delayed rectificer potassium current in sympathetic neurons. Elena Castro, Eduardo Acosta, Humberto Cruzblanca, Lab. Neurobiología Celular, Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas, Fac Medicina, Univ de Colima, México.

Superior cervical ganglion (SCG) neurons are phasic neurons whose firing pattern is switched to a tonic mode upon stimulation of muscarinic or Angiotensin II (Angio II) receptors. This effect is partially due to inhibition of the M-type K^+ current. However, the delayed rectifier current I_{KV} might be modulated by these receptors, because its transient genetic elimination reduces the probability of tonic firing. Here, we report that the muscarinic agonist oxotremorine-M (Oxo-M) and Angio II enhance I_{KV} and characterize the properties of their signaling pathways. Whole-cell patch-clamp was carried out in cultured SCG cells to record I_{KV}. Single cell RT-PCR was performed to identify the Gα subunits expressed by these sympathetic cells. Oxo-M (10 μM) and Angio II (500 nM) increased I_{KV} current density by 16.1 ± 1.4 pA/pF (n = 8) and 10.6 ± 1.5 pA/pF (n = 15), respectively, from a non-stimulated basal level, at 0 mV, of 35 ± 3.6 pA/pF. The relatively selective muscarinc $M_{2/4}$-antagonist himbacine and the AT_1-antagonsit losartan reduced the enhancement of I_{KV} to 4.3 ± 0.5 pA/pF (n = 12) and 3.9 ± 0.8 pA/pF (n = 13), respectively. In contrast, neither the M_1-antagonist pirenzepine nor the AT_2-antagonsit PD123-317 disrupted the modulation of I_{KV}. SCG neurons express the PTX-sensitive Gα subunits $G\alpha_o$, $G\alpha_{i1}$, $G\alpha_{i2}$ and $G\alpha_{i3}$ and the PTX-insensitive subunits $G\alpha_q$, $G\alpha_{11}$, $G\alpha_s$, $G\alpha_z$ and $G\alpha_{12}$. The receptor-mediated modulation of I_{KV} was PTX-insensitive. However I_{KV} modulation was severely disrupted by replacing the internal ATP by its non-hydrolysable analogue AMP-PNP. Further evidence suggests that the M_2-like and AT_1 receptors couple to a PTX-insensitive (neither G_s nor G_q) G-protein to activate a protein kinase pathway to modulate I_{KV}. *(Supported by CONACYT 44933-Q)*

POS 03-15

Expresión de OAT1 ("Organic Anion Transporter 1") en ratas con insuficiencia renal aguda isquémica. Gisela Di Giusto, Silvina R. Villar, Adriana M. Torres, Farmacología, Fac. de Cs.

Bioq. y Farm., CONICET. Univ. Nacional de Rosario, Argentina. Email: adtorres@fbioyf.unr.edu.ar.
Estudios realizados en nuestro laboratorio han demostrado modificación en la expresión y función de OAT1 en presencia de patologías renales y sistémicas. El objetivo del presente trabajo consistió en evaluar la expresión de OAT1 en riñones de ratas con insuficiencia renal aguda isquémica bilateral (IRA). Se utilizaron ratas Wistar macho adultas. El modelo de IRA se realizó mediante clampeo de ambas arterias renales durante 60 minutos, realizándose los estudios correspondientes a los 60 minutos post-liberación (Grupo IRA). Se procesó paralelamente un grupo de ratas Sham. Se realizaron estudios histológicos. Se evaluó la expresión de OAT1 en homogenados de corteza renal (H) y en membranas basolaterales (MBL) usando técnicas de Western Blot. Se realizaron, además, estudios de inmunocitoquímica. *Resultados:* los riñones de ratas IRA presentaron reducción en la altura del epitelio tubular a nivel cortical, aumento del diámetro de la luz tubular y descamación celular. La expresión de OAT1 (%) disminuyó tanto en H como en MBL. H: Sham= 100 ± 2.4, (n = 4), IRA= 69.7 ± 5.6*(n = 4); BLM: Sham= 100 ± 2.6 (n = 4), IRA= 87.3 ± 3.2 (n = 4) (* P< 0.05). Los estudios de inmunocitoquímica corroboraron los resultados obtenidos con Western Blot. En presencia de esta patología se observa una disminución en la abundancia de OAT1 tanto en H como en MBL, la cual podría deberse a una disminución de su síntesis o a un aumento de su degradación. Esta disminución podría condicionar la eliminación renal de aniones orgánicos tanto de importancia fisiológica como farmacológica en presencia de esta patología.

POS 03-16

Ion and Water Transport in Upper Segment of the Malpighian Tubule of *Rhodnius prolixus.* Hernández CS, Vargas-Janzen A, Sánchez F, Whittembury G. Lab. Fisología y Biofísica. Instituto de Biología Experimental. Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela, UCV. Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, UCV. Lab. Fisiología Renal. Centro de Biofísica y Bioquímica. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, IVIC.

The blood feeding insect *Rhodnius prolixus* is adapted to long periods of starvation, followed by sporadic large blood meals; wich can be 10-15 times their body weight. The Upper Malpighian Tubules (UMT) regulates the fluid and ion concentration to maintain the internal homeostasis of the insect. We have measured the osmotic permeability of the basolateral cell membrane ($\mathbf{P_{os}^{cb}}$) and compared it with the transepithelial permeability ($\mathbf{P_{os}^{te}}$) to calculate the paracellular ($\mathbf{P_{os}^{p}}$) permeability of the upper Malpighian tubules (UMT) of the 5th instar of *Rhodnius prolixus* under several experimental conditions, namely, at rest and after stimulation to secrete with 5-HT, each under control conditions (no treatment), after treatment with pCMBS (parachloro-mercuri-benzene-sulfonate), and after addition of pCMBS and DTT (dithiothreitol). Resting secretion rate (SR) is **negligible**. During stimulation mean SR is 43.5 nl/cm^2 sec. SR is severely curtailed by pCMBS and fully restored by DTT. Permeabilities are: $\mathbf{P_{os}^{cb}}$ = 9.4 (resting, control); 5.8 (control + pCMBS); 10.7 (control + pCMBS + DTT); 20.6 (stimulated, control); 14.7 (stimulated + pCMBS); 49.1 (stimulated + pCMBS + DTT) (x 10^{-4} cm ^{3} /cm ^{2} sec Osm). Calculated $\mathbf{P_{os}^{p}}$ are higher than the transcellular permeability, $\mathbf{P_{os}^{c}}$, at rest and after stimulation. Electron micrograph morphometry of UMT sections show that cells significantly decrease their volume after stimulation.

POS 03-17

Influence of chloride channels on the vacuolar H^+-ATPase from proximal tubule cells and its modulation by ATP and cAMP. Luciene Regina Carraro-Lacroix, Camila Nogueira Alves Bezerra, Gerhard Malnic. Department of Physiology and Biophysics, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

The present investigation was undertaken to verify the role of chloride channels on the H^+-ATPase activity in IRPTC cells, a SV40-transformed cell line derived from rat proximal tubules, and its regulation by ATP and cAMP. Through pH_i measurements by fluorescence microscopy with the dye BCECF, we demonstrated that IRPTC cells express both Na^+/H^+ exchanger and H^+-ATPase. In these immortalized cells, the pH recovery rate measured after intracellular acidification with NH_4Cl was 0.27±0.019 (n=5) pH units/min and in the absence of Na^+ was 0.12±0.017 (n=11) pH units/min. In the absence of both Na^+ and Cl^-, the pH recovery from an ammonium pulse was 0.024±0.0051 (n=6) pH units/min and with 0 Na^+ plus 10^{-5} M NPPB (a non specific chloride channel blocker), 0.046±0.0063 (n=11) pH units/min. We further investigated the effects of 8-Br-cAMP (a pharmacological activator of CFTR Cl^- channels) on the pH_i recovery rates mediated by the vacuolar H^+-ATPase, and we found that this agent caused a small (but not significant) increase of the vacuolar H^+-ATPase activity (to 0.17±0.026 pH units/min, n=11). The addition of 10^{-4} M ATP to 0 Na^+ solution did not change dpH/dt, reaching 0.11±0.022 (n=11) pH units/min. In conclusion, we observed that the vacuolar H^+-ATPase activity in IRPTC cells depends on chloride channels, being regulated by cAMP, but not by ATP.

POS 03-18

Efecto del 17 α etinil estradiol (EE) sobre localización de aquaporina 8 (AQP8) en microdominios de membranas en células hepáticas. M. Cecilia Larocca, Flavia I. Carreras, Raúl A. Marinelli, Inst. de Fisiol. Exp., Fac. Cs. Bioq. Farm., Univ. Nac. Rosario-CONICET.

Los hepatocitos son células epiteliales responsables de la secreción biliar canalicular. El transporte de agua a través de la membrana canalicular tiene lugar a favor del gradiente osmótico generado en forma activa por

transportadores de solutos, y es facilitado por AQP8. Nuestros resultados indican que durante la colestasis inducida por EE disminuye la expresión hepática de AQP8 por aumento en su degradación lisosomal. En membrana canalicular, AQP8 se localiza parcialmente en microdominios enriquecidos en colesterol y esfingolípidos (rafts). O**bjetivo:** estudiar si EE altera la distribución de AQP8 en rafts en células hepáticas. **Metodología**: el efecto de EE se analizó en un subclon de células HepG2 (C3A) y en hígados de ratas tratadas con dosis colestásicas de EE (5 mg/kg p.c., 5 días). Estudios de PCR, Western blot e inmunofluorescencia indican que C3A conserva la expresión y localización subcelular de AQP8 descripta en hepatocitos de rata. La distribución de AQP8 en rafts se determinó analizando por Western blot su expresión en fracciones de membrana solubles o insolubles (rafts) en Tritón X-100 1%. **Resultados**: EE 10 mM indujo una disminución en la formación de pseudocanalículos en células C3A a las 24 y 48 h. Luego de 72 h de incubación EE indujo una disminución en los niveles de AQP8 en membrana plasmática (EE -25%, n 3, $p<0,05$). En estas condiciones se observó un aumento del porcentaje de AQP8 en fracciones enriquecidas en rafts (EE 74±4 vs C 61±1, n 3, $p<0,05$). Este efecto se corroboró en estudios realizados *in vivo* (EE 64±12 vs C 34±9, n 4, $p=0,05$). C**onclusión**: EE induce un aumento en los niveles de AQP8 en rafts de membrana plasmática. Estos microdominios participan en el direccionamiento de proteínas canaliculares en hepatocitos, lo que hace atractiva la hipótesis que alteraciones en el tráfico de AQP8 debidas a cambios en su distribución en rafts podrían conducir a un aumento en su degradación.

POS 03-19

Estudios biofísicos de permeabilidad al agua controlando el medio en ambos lados de la membrana celular de ovocitos de *Xenopus laevis*. Marcelo Ozu[1,2], Ricardo Dorr[1] y Mario Parisi[2], (1) Lab. de Biomembranas, Dpto. de Fisiología, Fac. Medicina (UBA), y (2) Unidad de Biomembranas, Universidad Favaloro, República Argentina.

Los ovocitos de *Xenopus laevis* son idóneos para estudiar propiedades de proteínas foráneas expresadas en ellos, como es el caso de los canales de agua (acuaporinas). La permeabilidad al agua se calcula a partir de los cambios de volumen de los ovocitos, que ocurren al someterlos a cambios osmóticos por modificación del medio extracelular. Una limitación de esta técnica es la imposibilidad de acceder al medio interno de la célula, para controlarlo y modificarlo. Esta restricción logró superarse en nuestro laboratorio mediante el desarrollo de una técnica que permite pegar un ovocito sobre una placa de acrílico perforada y, luego, mediante microperfusión, reemplazar total o parcialmente el medio intracelular. La membrana celular queda así separando dos cámaras independientes, una de ellas hermética. Cualquier pasaje neto de fluido a través de la membrana provoca su desplazamiento, lo que permite medir la permeabilidad al agua mediante videomicroscopía. Se incrementó la presión hidrostática del lado intracelular en ovocitos maduros e inmaduros, comprobándose que el cambio de volumen relativo máximo que pueden tolerar antes de su ruptura es similar. Sin embargo, el coeficiente de permeabilidad osmótica Pf (10^{-3} cm/s) en los ovocitos maduros (1.72±0.58, n=6) fue significativamente menor que en los inmaduros (5.18±0.59, n=5; $p<0.005$). También se midieron movimientos de agua en ovocitos que expresan acuaporina-1 (AQP-1), y el Pf en ellos fue significativamente mayor que en ovocitos inyectados con agua (41.22 ± 5.96, n=7 vs 4.05 ± 0.47, n=3; $p<0.001$). Además se estudió el efecto del inhibidor $HgCl_2$, aplicado en forma selectiva en ambos lados de la membrana, demostrándose una asimetría en respuesta a su presencia.

POS 03-20

Methyl-β-cyclodextrin reversibly alters the gating of lipid rafts- associated Kv1.3 channels in Jurkat T lymphocytes. Igor Pottosin, Georgina Valencia-Cruz, Edgar Bonales-Alatorre, Oxana Dobrovinskaya, Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Colima, Colima, México.

The voltage-dependent Kv1.3 potassium channels mediate a variety of physiological functions in human T lymphocytes. These channels, along with their multiple regulatory components are localized in cholesterol-enriched microdomains of plasma membrane (lipid rafts). In this study, patch-clamp technique was applied to explore the impact of the lipid raft integrity on the Kv1.3 channel functional characteristics. T lymphoma Jurkat cells were treated for 1 hour with cholesterol-binding oligosaccharide methyl-β–cyclodextrin (MβCD), resulting in depletion of cholesterol by 75-80%. Treatment with 2 mM MβCD did not affect the cells viability, but retarded the cell proliferation. The latter treatment caused a depolarizing shift of the Kv1.3 channel activation and inactivation by 11 and 6 mV, respectively, and more than two-fold decrease of the channel's sustained activity at infinite depolarization. Altogether, these changes underlie the depolarization of membrane potential, recorded in a current-clamp mode. The effects of MβCD were concentration- and time-dependent, and reversible. Both development and recovery of the MβCD effects were completed within 1-2 hours. Therefore, cholesterol depletion causes significant alterations in the Kv1.3 channel function, whereas T cells possess a potential to reverse these changes. Supported by CONACyT *2004-CO1-46731* for OD.

POS 03-21

Proteína quinasa A y fosfatidilinositol-3-quinasa median el aumento en la expresión de aquaporina-8 hepática inducida por glucagon. Leandro R. Soria, Sergio A. Gradilone, J. Elena Ochoa, Raúl A. Marinelli. Instituto de Fisiología Experimental (IFISE)- CONICET, Universidad Nacional de Rosario.

Glucagon, vía activación de la proteína quinasa A (PKA) y fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), estimula la inserción exocítica del canal de agua aquaporina-8 (AQP8) en la membrana canalicular del hepatocito y el transporte de agua durante la formación de la bilis. Recientemente observamos que glucagon también induce el aumento de los niveles proteicos de AQP8 hepática. Por lo tanto, nuestro **objetivo** fue estudiar si PKA y PI3K actúan como mediadores intracelulares de la acción del glucagon sobre la expresión de AQP8. Se utilizaron hepatocitos aislados de rata en cultivo primario sobre soporte de colágeno. Las células fueron expuestas, durante 12 horas, a dosis crecientes de glucagon (0,1; 0,5 y 1 μM). Se prepararon membranas celulares totales por ultracentrifugación y la expresión de la proteína AQP8 se evaluó por inmunobloting y densitometría. Glucagon aumentó la expresión de AQP8 en forma dosis dependiente (para 1μM AQP8 aumentó +76%; $p < 0,01$; n=4). Células cultivadas por 12 horas en presencia del activador de PKA dibutyryl-AMPc (100 μM), también mostraron un aumento de la expresión de AQP8 (+74%; $p < 0,01$; n=4). El pretratamiento por 30 min con los inhibidores de PKA, H89 (30 μM) o PKI (10 μM), así como con los inhibidores de PI3K, wortmanina (100 nM) o LY294002 (20 μM) bloqueó totalmente el efecto inductor de la hormona. En **conclusión**, nuestros resultados indican que glucagon estimula la expresión de la proteína AQP8 en hepatocitos por un mecanismo dependiente de la activación de PKA y PI3K.

POS 03-22

Estudio del intercambiador Na^+/H^+ en una línea celular de intestino humano: su regulación por uroguanylin. Roxana Toriano[1] y Mario Parisi[2] [1]Lab. de Biomembranas. Dpto. de Fisiología y Biofísica. Fac. de Medicina. Univ. de Bs. As. [2] Unidad de Biomembranas. Universidad Favaloro. Buenos Aires. Argentina.

Los mecanismos de regulación del pH intracelular (pHi) están íntimamente ligados con los de mantenimiento del volumen celular, siendo en algunos casos los mismos transportadores los que intervienen en ambos procesos. En particular, el intercambiador Na^+/H^+ juega un papel fundamental en la absorción electroneutra de Na^+ a través del intestino. El Uroguanylin es un péptido endógeno que se propone como eje de unión exocrina entre intestino y riñón en el mantenimiento de la homeostasis de Na^+ y por tanto de agua en el compartimiento corporal. Nosotros estudiamos su influencia sobre el pHi y sobre el movimiento neto de fluido. Las isoformas NHE1 y NHE2 del transportador fueron localizadas por RT-PCR en nuestro modelo experimental, las células T84 derivadas de un adenocarcinoma de colon humano. Confirmamos además la presencia de las proteínas por westernblot. Para los ensayos funcionales, las monocapas se crecieron sobre soporte permeable, permitiendo el acceso independiente a las caras apical y basolateral de las células. Se ensayó la regulación del pHi bajo diferentes condiciones experimentales. En ausencia de Na^+ basolateral, se verificó que las células son incapaces de regular su pHi basal, ocurriendo una acidificación, que revierte en solución control. Luego de un prepulso de NH_4^+ y en ausencia de Na^+ basolateral, las células tampoco pudieron regular su pHi. Frente a la estimulación con Uroguanylin del lado apical de la monocapa, inmediatamente después del prepulso de NH_4^+, hubo un retardo en la recuperación del pHi respecto del control. Al medir el flujo de agua transepitelial (Jw) de la monocapa celular estimulada con Uroguanylin del lado apical, las células mostraron un aumento en la secreción neta de fluido.

POS 03-23

Functional role of lysine 114/115 in the sodium-dicarboxylate cotransporter 3 from winter flounder (fNaDC-3) and man (hNaDC-3). Adriana M. Torres*, Yohannes Hagos[#], Birgitta C. Burckhardt[#], Gerhard Burckhardt[#], *Farmacología, Fac. de Cs. Bioq. y Farm., CONICET; Universidad. Nacional de Rosario, CONICET, Argentina; [#]Zentrum Physiologie und Pathophysiologie, Universität Göttingen, Germany. Email: adtorres@fbioyf.unr.edu.ar.

NaDC-3 is an electrogenic cotransporter translocating 3 sodium ions with one dicarboxylate. The replacement of lysine by isoleucine in the position 114 (K114I) of fNaDC-3 showed [^{14}C]succinate uptake, but unlike wildtype (wt), only small inward currents, suggesting a change in Na^+: succinate stoichiometry to 2:1. The aim of this study was to compare citrate-induced currents (ΔIcit) with succinate-induced currents (ΔIsuc), measured by the two-electrode voltage-clamp technique in *Xenopus laevis* oocytes expressing fNaDC-3 (wt, n = 7; K114I, n = 14) or hNaDC-3, to further characterize the role of this lysine in the function of the respective transporters. The mutants were obtained by site-directed mutagenesis. ΔIsuc and ΔIcit showed linear I-V relations and were inwardly directed in the potential range between -90 and 0 mV. ΔIsuc were lower in K114I than in wt expressing oocytes. On the contrary, ΔIcit were similar in mutant and wt. At -60 mV, ΔIsuc was (in nA) -37.4 ± 6.7 in wt; -10.4 ± 2.4* in K114I; ΔIcit was -15.1 ± 3.2* in wt; and -13.1 ± 2.0* in K114I (*$P < 0.05$ vs ΔIsuc,wt). Experiments with hNaDC-3 showed similar results. An interaction between the positive charge of lysine 114 with the negative charges of succinate might generate conformational changes necessary for maintaining the 3:1 stoichiometry. In the absence of lysine 114 the lack of this interaction might be responsible for a lower inward current. As opposed, lysine 114 does not seem to be important for the small, citrate-induced currents. Due to its larger size, citrate may create additional conformational changes, independent of its interaction with K114.

POS 03-24

Expression of organic anion transporters in rats with bilateral ureteral obstruction. Silvina R. Villar*, Anabel Brandoni*, Naohiko Anzai[#], Hitoshi Endou[#], Adriana M. Torres*. *Farmacología,

Fac. de Cs. Bioq. y Farm., CONICET. Univ. Nacional de Rosario, Argentina. #Kyorin University School of Medicine, Tokyo, Japan. Email: adtorres@fbioyf.unr.edu.ar.

The obstruction of the urinary tract (BUO) impairs kidney functionality, and is characterized by profound changes in both renal hemodynamics and tubular functions. The tubular secretion of organic anions is an important function of the kidney, disposing of potentially toxic organic anions from the body. We have observed modifications in the renal clearance of organic anions in rats with BUO after 24 hours of ureteral realeasing (Kidney Int. Vol 68-2005-pp 2704-2713). The objective of this work was to study the renal excretion of *p*-aminohippurate (PAH) and the cortical renal expression of the organic anion transporters (OAT1 and OAT3) in BUO rats. Male Wistar rats underwent bilateral obstruction of the proximal ureters (BUO, n=6), which lasted 24 hours; a Sham-operated group (Sh, n=5) was also tested. 48 hours after ureteral releasing, the following studies were performed: PAH renal excretion employing conventional clearance techniques and OAT1 and OAT3 expression using immunoblotting and immunocytochemical techniques. BUO rats showed a renal clearance of PAH lower than Sham (Cl_{PAH} mL/min/100g b.w.: Sh=4.12±0.90; BUO=0.83±0.15*). Immunoblotting revealed significant decreases in the abundance of OAT1 in homogenates, intracellular membrane fractions, and basolateral plasma membranes (BLM) ($OAT1_{BLM}$ %: Sh=100±9; BUO=50±12*) from renal cortex in the obstructed kidney. Similar decreases were observed for OAT3, in homogenates and basolateral membranes ($OAT3_{BLM}$ %: Sh=100±6; BUO=47±3*), while values for intracellular vesicles did not change. (* $p<0.05$). Immunocytochemical assays confirmed these results. In conclusion, downregulation of OAT1 and OAT3 in rats with BUO may contribute to the impairment in the elimination of organic anions.

POS 03-25

Alcohol bencílico modula el transporte mediado por Mrp2 en duplas aisladas de hepatocitos de rata. Fernando A. Crocenzi, Elena J. Ochoa, José M. Pellegrino, Enrique J. Sánchez Pozzi, IFISE, Fac Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, CONICET - U.N.Rosario, Argentina.

Mrp2 es un transportador ATP-dependiente, presente en la membrana canalicular del hepatocito que exporta aniones orgánicos hacia bilis. Se ha demostrado que la actividad de Mdr1, otro transportador canalicular, es modulada por la fluidez de la membrana por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del alcohol bencílico (AB), un fluidificante de membrana, sobre la actividad de Mrp2. Como modelo de estudio se utilizó el tranporte del sustrato fluorescente glutation metilfluoresceina (GMF) en duplas aisladas de hepatocitos de rata. Las duplas fueron preincubadas por 5 min con AB a diferentes concentraciones (0.5, 1, 2, 5 y 10 mM) y luego fueron expuestas por 15 min a 5-clorometilfluoresceina diacetato que por la acción de esterasas intracelulares se transforma en GMF. A los 15 min, se determinó el porcentaje de duplas que acumularon GMF mediante un microspio de fluorescencia. Además, se tomaron fotografías para medir fluorescencia canalicular y celular y estimar la fracción de fluorescencia dentro del canalículo. Resultados (N=3 a 9 preparaciones): Duplas que acumularon: Control: 65±1%; AB 0.5mM: 73±2%[a]; AB 1mM: 69±1%; AB 2mM: 62±1%[b]; AB 5mM: 52±1%[a,b]; AB 10mM: 39±3%[a,b] ([a] diferente de Control, [b] diferente de AB 0.5mM, $p<0.05$). Fracción de fluorescencia celular correspondiente al canaliculo en células que acumularon: Control: 10±2%; AB 0.5mM: 7±2%; AB 1mM: 8±2%; AB 2mM: 8±2%; AB 5mM: 8±2%; AB 10mM: 8±2%. Conclusión: El tratamiento mejoró el transporte mediado por Mrp2 a concentraciones bajas de AB y lo empeoró a concentraciones altas, lo que sugeriría que existe una situación de fluidez óptima para la actividad de Mrp2. La relevancia de este efecto de la fluidez en la fisiopatología de la colestasis o en su tratamiento necesita estudios posteriores.

POS 03-26

Efecto del ATP extracelular en la señalizacion de calcio cytosólico de hepatoma humano (HepG2). M.V. Espelt, R.M. Pagni, D.E. Pafundo, P.J. Schwarzbaum. IQUIFIB. Facultad de Farmacia y Bioquimica (UBA), Buenos Aires, Argentina.

El ATP extracelular cumple un papel importante en la cascada de señalización celular. Las células liberan ATP al espacio extracelular como respuesta a una variedad de estímulos. En hepatocitos aislados se demostró que tanto la deformación mecánica como el estrés osmótico inducen el aumento del calcio citosólico libre ($Ca^{2+}i$) mediado por nucleótidos extracelulares. El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del ATP extracelular sobre la señalización de $Ca^{2+}i$ en HepG2. Las células fueron sometidas a: 1) agregado de ATP o 2) agitación mecánica. Se realizaron mediciones continuas de $Ca^{2+}i$ por microscopía de fluorescencia, y se determinó el porcentaje relativo de células ($Ca^{2+}i$ %) que mostraban al menos un pico de $Ca^{2+}i$. Por otro lado, se determinó el ATP endógeno extracelular por luminiscencia asociada a la actividad de la luciferasa. Por último, se midió la actividad de ectoenzimas de hidrolizar ATP extracelular (actividad ecto-ATPásica). Los resultados mostraron que: el $Ca^{2+}i$ % en células control fue de 12 ± 3%, mientras que bajo agitación mecánica aumentó significativamente a 21 ± 4% ($p<0.05$). El $Ca^{2+}i$ % aumentó hiperbólicamente con [ATP] (0.5-10 uM) con $K_{0.5}$= 3.8 ± 1.60 uM. En experimentos independientes se observó que, en células control, el nivel de ATP endógeno extracelular fue 15.1 ± 6.95 nM/10^6 céls. La agitación del medio extracelular, produjo un aumento no lineal hasta un máximo de 144 ± 65.44 nM/10^6 céls. ($p<0.05$), seguido de una caída exponencial (k=0.82) que tiende a 25.65 nM/10^6 céls. La actividad Ecto-ATPásica fue de 1.05 10^{-3} ± 5.66 10^{-4} nmol Pi/10^6 céls. min (0.1 uM ATP). De los resultados expuestos se concluye que HepG2 responde a ATP exógeno y endógeno

generando un aumento de Ca^{2+}i %. La actividad ectoATPásica observada, al hidrolizar ATP extracelular, modularía la señalización del Ca^{2+}i generada por el nucleótido.

POS 03-27

Involvement of PKC, MAPK and Sp1 in the transcriptional regulation of *SLC29A1* in human umbilical vein endothelium from gestational diabetes. Marcelo Farías, Carlos Puebla, Andrea Vecchiola, Paola Casanello, Luis Sobrevia. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) and Perinatology Research Laboratory (PRL), Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, PO Box 114-D, Santiago, Chile.

Adenosine transport via equilibrative nucleoside transporters 1 (hENT1) is reduced in human umbilical vein endothelium (HUVEC) from gestational diabetes, an effect associated with reduced hENT1 mRNA level and activation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), PKC and $p44/p42^{MAPK}$. We studied whether eNOS, PKC, $p44/p42^{MAPK}$ and Sp1 modulate hENT1 promoter in HUVEC. Transcriptional activity of *SLC29A1* (for hENT1) promoter region was evaluated by reporter constructs in HUVEC from normal or gestational diabetic pregnancies, in absence or presence of N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME, 100 μM, NOS inhibitor) o *S*-nitroso-L,D-acetyl penicillamine (SNAP, 100 μM, NO donor) PD-98059 [10 μM, MAP kinase kinase 1/2 (MEK1/2) inhibitor] and calphostin C (100 nM, PKC inhibitor). Sp1 protein abundance in the cytoplasm and nucleus (Western blot) and binding to *SLC29A1* promoter (chromatin immunoprecipitation) were determined. Gestational diabetes was associated with higher (1.8-fold) luciferase activity for promoter region spanning from -1114 to -795 bp, an effect blocked only by calphostin C and PD-98059. Gestational diabetes also increased nuclear abundance (1-7-fold) and binding (2.5-fold) of Sp1 to *SLC29A1* promoter. Thus, *SLC29A1* expression could be modulated by PKC and $p44/p42^{MAPK}$ via Sp1 in HUVEC from gestational diabetes. Supported by FONDECYT 1030781 and 1030607 (Chile). M.F. holds CONICYT- and Faculty of Medicine-PhD fellowships (Chile).

POS 03-28

Insulin blockage of D-glucose-stimulation of L-arginine transport does not involves Sp1 binding to *SLC7A1* promoter region in human fetal endothelium. Marcelo González, Andrea Vecchiola, Marcelo Farías, Paola Casanello, Luis Sobrevia. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) and Perinatology Research Laboratory (PRL), Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, PO Box 114-D, Santiago, Chile.

L-Arginine transport in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) is mediated mainly by system y^+/hCAT-1. Insulin and high extracellular D-glucose concentration (25 mM) stimulate L-arginine transport and increase hCAT-1 mRNA expression. We studied whether insulin alters high D-glucose effect on L-arginine transport, hCAT-1 mRNA and Sp1 binding to *SLC7A1* (for hCAT-1) promoter in HUVEC monolayers. L-[^{3}H]Arginine transport (0-1000 μM L-arginine, 2 μCi/ml, 37°C, 1 min), hCAT-1 mRNA copies (RT-PCR) and Sp1 binding to *SLC7A1* promoter (chromatin immunoprecipitation) were determined in 5 or 25 mM D-glucose (24 h) and/or insulin (1 nM, 8 h). D-Glucose increased the V_{max} of L-arginine transport (3.9 ± 0.9 vs 10.1 ± 4.3 pmol/μg protein/min), an effect blocked by insulin (3.1 ± 1.8 pmol/μg protein/min). Insulin also blocked the increased of hCAT-1 mRNA level induced by D-glucose. Sp1 binding to a consensus sequence between -350 and -216 bp of *SLC7A1* promoter region was increased by D-glucose (~1.9-fold), an effect that was unaltered by insulin. Thus, insulin blocks D-glucose-increased L-arginine transport due to reduced hCAT-1 expression by a mechanism that seems independent of Sp1 binding to the proximal region (up to -350 bp) of *SLC7A1* promoter in HUVEC. Supported by FONDECYT 1030781/1030607. M.G. holds a CONICYT PhD fellowship.

POS 03-29

Caracterización de actividad E-NTPDásica de células de hepatoma humano. R. M. Pagni, G. Venera, P. J. Schwarzbaum. IQUIFIB. Facultad de Farmacia y Bioquimica (UBA), Buenos Aires, Argentina.

En todas las células animales estudiadas, existen nucleósidos di- y trifosfato presentes en el medio extracelular los cuales pueden ser sustratos de E-NTPDasas (ecto-nucleosido-trifosfato-difosfo hidrolasas), enzimas transmembrana con su sitio activo dispuesto hacia el lado extracelular. En el presente trabajo se caracterizó la actividad E-NTPDásica de HEPG2.Se determinó la velocidad de acumulación del Pi como producto de la reacción enzimática. Las concentraciones de nucleotidos utilizados fueron en el rango nM, para simular la situación *in vivo*, y concentraciones no limitantes (mM), para estimar la máxima capacidad hidrolítica. Se midió, en presencia de células enteras: i) actividad ecto-ATPásica (denominada vi); ii) actividad ecto-nucleotidasa máxima aparente (Vmaxapp) en presencia de 2 mM de ATP, UTP, UDP o ADP. Además, se determinó la actividad ectoATPásica a partir de una fracción microsomal cruda (Vmicr). Los resultados muestran que: vi aumentó de manera no lineal con 20; 100; 300 y 500 nM ATP, con vi de $1.4\ 10^{-04}$±$3.1\ 10^{-05}$; $1.05\ 10^{-3}$±$5.66\ 10^{-4}$; $8.04\ 10^{-3}$±$1.76\ 10^{-3}$; $3.08\ 10^{-2}$±$1.7\ 10^{-2}$ nmolPi/10^6cel min, respectivamente. Con 10 mM EDTA vi fue inhibido 87%, y fue insensible a inhibidores de ATPasas de transporte iónico (NEM 1mM, oligomicina 2.6 μM, vanadato 10 μM) y de fosfatasas alcalinas (levamisol 1mM). Además, fue inhibido por AMP-CPP (análogo no hidrolizable del ATP) de manera exponencial (Ki = 0.0170 ±

0.0043 μM^{-1} e inhibición máxima del 60%). La Vmax app (nmol Pi/10^6cel.min) fue 71 ± 3 (ATP); 7 ± 4 (ADP); 25 ± 3 (UTP) y 6 ± 1 (UDP). Por otro lado, Vmicr (nmol Pi/mg.min) fue de 155 ± 9 mientras que con NEM 1mM, oligomicina 2.6 μM, vanadato 10 μM sin EDTA fue de 131±9, y con EDTA fue de 0.3. Es decir que el 86.9% de la actividad ectoATPasica total se puede asignar a E-NTPDasas. En conclusión, se caracterizó una actividad E-NTPDasa de HEPG2 con actividad hidrolitica para nucleosidos di y trifosfato de adenina y uracilo. Esta actividad es medible a concentraciones namomolares.

POS 03-30

Efectos de la betaciclodextrina sobre la permeabilidad de la vejiga y la piel del sapo al agua y a los electrolitos. Gabriel Orce, Graciela Castillo y Yolanda Chanampa - Instituto de Fisiología, Fac. de Medicina y Depto. de Fisiología y Neurociencia, INSIBIO (UNT-CONICET) - Avda. Roca 1900, 4000 Tucumán - orcegap@yahoo.com.

La membrana plasmática celular, formada esencialmente por una bicapa lipídica, es el asiento de transportadores de agua e iones y de receptores para sustancias capaces de modular esos transportes. Para estudiar la influencia del ambiente lipídico de la membrana sobre el transporte transepitelial utilizamos betaciclodextrina (BCD), polímero cíclico de glucosa capaz de extraer colesterol de las membranas biológicas. Determinamos en ambos epitelios el pasaje de agua, midiendo la pérdida de peso (Jw) de preparados expuestos a un gradiente osmótico, y los parámetros eléctricos en la piel mediante la técnica de Ussing. Hallamos que, mientras que la exposición de la cara apical (externa) de la vejiga a BCD inhibía en un 80% ($P<0.001$, n= 9) el incremento de Jw causado por exposición de esa cara a la nistatina (que forma canales permeables al agua uniéndose al colesterol de la membrana), esa respuesta no era alterada en la piel en las mismas condiciones (n= 6). La respuesta hidrosmótica a la ocitocina, inhibida en más del 75% ($P<0.001$, n= 5) por BCD en el baño seroso (interno) en la vejiga, tampoco fue modificada por BCD presente en el baño interno de la piel (n= 6) . Finalmente, ni la corriente de cortocircuito (que mide el transporte de Na+) ni la corriente de cortocircuito inducida por un gradiente de concentración de Cl^- en piel aislada estimulada por teofilina y expuesta a amilorida apical (correspondiente al flujo transepitelial de Cl^- inducido por el gradiente) fueron modificadas por BCD (n= 6) . Conjuntamente, estos resultados sugieren la existencia de importantes diferencias en la influencia que la composición o estructura lipídica tiene sobre los fenómenos de transporte en ambos epitelios, cuya posible significación fisiológica queda por explorar.

POS 03-31

D-Glucose and insulin modulation of Sp1 binding on *SLC29AI* promoter in human umbilical vein endotheliium HUVEC. Andrea Vecchiola, Marcelo Farías, Marcelo González, Carlos Puebla, Paola Casanello, Luis Sobrevia. Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL) and Perinatology Research Laboratory (PRL), Department of Obstetrics and Gynaecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile, PO Box 114-D, Santiago, Chile.

We cloned and characterized a -3.2 kb promoter region of *SLC29A1* gene (for human equilibrative nucleoside transporter 1, hENT1) in primary cultures of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC). Gestational diabetes (GD) and high extracellular D-glucose (25 mM) alter *SLC29A1* promoter activity in HUVEC. Transcriptional activity of -1114 pb promoter fragment was increased in HUVEC from GD and by 25 mM D-glucose compared with HUVEC from normal pregnancies in 5 mM D-glucose. We studied whether Sp1 was involved in GD and high D-glucose effect on *SLC29A1* transcriptional activity. Sp1 protein abundance in nuclear extracts (Western blot), and Sp1 binding on -922 to -673 bp of *SLC29A1* promoter (chromatin immunoprecipitation) were determined. Sp1 nuclear abundance was higher in GD (~1.6-fold), high D-glucose (~2-fold) and in response to insulin (~2.8-fold). Sp1 binding to *SLC29A1* promoter was increased by D-glucose (~1.6-fold), GD (~1.6-fold) and GD + D-glucose (~2.7-fold), effects that were blocked by insulin. Co-incubation with insulin + D-glucose induced higher increase in nuclear abundance of Sp1 (~8-fold), but reduced (~50%) the effect of D-glucose on Sp1 binding to *SLC29A1* promoter. Thus, GD and high D-glucose could determine metabolic environments leading to a differential response to insulin regarding the involvement of Sp1 as modulator of *SLC29A1* in HUVEC. Supported by FONDECYT 1030781 and 1030607 (Chile). M.F. holds CONICYT- and Faculty of Medicine-PhD fellowships (Chile).

POS 03-32

Establecimiento de un modelo *in vitro* para la determinación de permeabilidad de drogas Martinez R., Rodríguez Y., Bezzi P., Abalos I., Cappelletti N., Gruñeiro E., Chiale C., Pesce G. *Toriano R. Instituto Nacional de Medicamentos, ANMAT. * Laboratorio de Biomembranas, Dpto. de Fisiología y Biofísica. Fac. de Medicina - UBA. Argentina

Históricamente, los estudios de permeabilidad de drogas a través de la mucosa intestinal se realizaron *in vivo y ex vivo*. Razones de orden ético y el avance de las técnicas de cultivo celular condujeron al diseño de modelos *in vitro* que pueden ser utilizados como métodos alternativos. Uno de estos modelos está constituido por las células Caco2, línea celular establecida a partir de un adenocarcinoma de colon humano, que en condiciones adecuadas de cultivo mantienen las características morfológicas y funcionales del epitelio intestinal humano. Diferentes autores han demostrado que existe una muy buena correlación entre los valores de permeabilidad intestinal de algunas drogas en humanos y los determinados

en células Caco2. El objetivo de nuestro trabajo es la validación de este modelo *in vitro* para la medición de permeabilidad de drogas. Métodos: La funcionalidad del cultivo celular se determinó mediante la resistencia eléctrica transepitelial (TEER) de la monocapa cultivada sobre soporte permeable y la medición de permeabilidad (Pe) de drogas de referencia por extracciones sucesivas en tiempo fijo y análisis de las muestras por HPLC. Resultados: Luego de 21 días de cultivo las monocapas presentaron un TEER (x±SEM) de (525±79) $\Omega.cm^2$. La Pe del atenolol y de la teofilina, drogas de pasaje paracelular y transcelular, fue de $(1.33 \pm 0.23)\ x10^{-6}\ cm.s^{-1}$ y $(55 \pm 3.2)\ x10^{-6}\ cm.s^{-1}$, respectivamente. Conclusiones: Estos resultados indican que este modelo *in-vitro* podría ser utilizado satisfactoriamente como sustituto de los estudios de permeabilidad intestinal de drogas, que se realizan en modelos *in vivo*.

POS 03-33

Quaternary ammonium cholinesterase inhibitors modulate nicotinic receptors through different mechanisms. Silvia Olivera, Isabel Ivorra, Andrés Morales (quieres poner a Estela?, siéntete libre por favor). División de Fisiología, DFGM, Universidad de Alicante, Spain.

Modulation of nicotinic acetylcholine (ACh) receptors (nAChRs) deserves great interest given the nAChR relevance on CNS physiology and pathophysiology. Since some quaternary ammonium anticholinesterases (QChEIs) modulate nAChRs, we have studied the effects of the most prototypic QChEIs on nAChR function to define a modulation pattern that facilitate the finding of potentiating actions. Purified *Torpedo* electroplax receptors were microinjected to stage V-VI *Xenopus laevis* oocytes. 16 hs later, transplanted oocytes were challenged with ACh and elicited currents (I_{ACh}) recorded using two-microlectrode voltage clamp. None of the tested QChEIs (BW284c51, decamethonium, edrophonium) changed oocyte membrane potential, but when co-applied with ACh,.they differentially blocked I_{ACh} BW284c51 was the most potent (IC_{50} = 0.5 μM) and quickest reversible blocker. It inhibited I_{ACh} at negative potentials, decreased the time to peak and accelerated fast desensitisation by binding the nAChR channel very superficially. Decamethonium and edrophonium exhibited similar blocking potency (both IC_{50} = 10 μM) and did not modify nAChR desensitisation but their underlying mechanisms and binding site were different. Decamethonium show a non-voltage dependent and slow reversible inhibition, suggesting no actions on nAChR channel. Edrophonium exhibited strong voltage dependence and bounded very deeply into the channel pore. Synergistic effects among BW284c51, decamethonium and edrophonium indicate different binding sites which could account for the multiple effects founded and hinders the search of predictable modulation patterns. Morevoer, it is critical to consider the many allosteric effects that nAChR suffer when it is taken as pharmacological target. * *Supported by MCyT (BFI2001-0756) and Fundación Carolina, Spain*

POS 03-34

ATP release and RVD in Goldfish hepatocytes under hypotonic shock. D. E. Pafundo, M. P. Faillace, G. Krumschnabel[1] and P. J. Schwarzbaum, IQUIFIB. Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA), Buenos Aires, Argentina. [1]Institut für Zoologie and Center of Molecular Biosciences, Leopold Franzens Universität Innsbruck, A-6020, Austria.

In most cells, hypotonic swelling is followed by a compensatory shrinkage called regulatory volume decrease (RVD). According to the current model, cells first swell in hypotonic medium, followed by the release of ATP to the extracellular space. This endogenous extracellular ATP binds to specific purinergic receptors (P2), which triggers a series of intracellular events that result in loss of osmolytes and water, thus allowing cell volume to be regulated. The current dogma for most animal cells states that RVD has adaptive value because it prevents cell disruption and extends cell viability. However, when goldfish (Carassius auratus) hepatocytes -unlike any other hepatic cell studied so far- are challenged with a 40% hypotonic medium, cells increase their volume 1.7 times and remain swollen for up to 300 min with no significant loss of cell viability. Interestingly, addition of 1 μM ATPγS (a non hydrolyzable analog of ATP) induces a 41.95±4.27 % RVD. The effect of ATPγS is concentration dependent (1-50 μM, $K_{0.5}$= 570 nM) and can be abolished (64%) by P2 antagonists. We also show that goldfish hepatocytes release up to 725 ± 166 nM ATP, even though these cells do not perform RVD in hypotonic conditions. Thus, do cells release ATP without showing RVD? To solve this apparent discrepancy, we measured RVD in 40 μl total volume, i.e., a volume which is 12.5 times smaller than in our former experiments. Under this condition, an RVD of 55.63±4.55 % is induced, and this response is abolished a 72.8% by P2 antagonists. In conclusion, we determined that goldfish hepatocytes, presumed to lack RVD, do release ATP under hypotonic stress and this molecule can induce RVD when accumulated in the extracellular space.

POS 03-35

Modulación de la actividad y expresión de transportadores de resistencia múltiple a drogas por ciclosporina-A y tacrolimus en células de barrera hematoencefálica. Claudia Quezada, Mauricio González, Cecilia Rauch, Alejandro Claude, Mónica Salas, Alejandro Yañez, Juan C. Slebe, & Juan G. Cárcamo. Laboratorio de Farmacología Tumoral, Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

La resistencia múltiple a drogas (MDR) es el mayor obstáculo para el tratamiento farmacológico en cáncer. Esta resistencia se asocia con una sobreexpresión de transportadores de MDR en la membrana celular. Esta complejidad es aun mayor en el SNC, donde la barrera

hematoencefálica limita drásticamente el acceso a la mayoría de los agentes antitumorales. En este estudio identificamos los transportadores de resistencia a drogas presentes en una línea celular de barrera hematoencefálica e identificamos el efecto de los inmunosupresores ciclosporina-A y tacrolimus sobre la expresión y actividad de los transportadores MDR. Métodos. Células HBMEC (human brain microvascular endothelial cells) fueron cultivadas en medio RPMI1640 suplementado con 1% SBF. Las células fueron expuestas por 24 h a tacrolimus 30 y 100 ng/ml o ciclosporina-A 1 y 3 μg/ml. El contenido de los transcritos de los transportadores MDR fue determinado mediante RT-PCR. La actividad de transporte se midió por la acumulación de sustratos fluorescentes. Resultados. En células HBMEC se expresan predominantemente los transcritos de los transportadores MDR1 y ABCA5. La expresión de estos transportadores también se determinó mediante inmunofluorescencia. La expresión de MDR1 aumenta a concentraciones 100 ng/ml de tacrolimus pero su actividad disminuye. En cambio el tratamiento con ciclosporina-A 3 μg/ml disminuye tanto la expresión como la actividad de MDR1. Conclusiones. El uso de ciclosporina-A podría mejorar la bioasequibilidad de drogas antitumorales al sistema nervioso central por modulación de MDR1. Financiado por PBCT N°5 (CONICYT-Chile), DID-UACH-SB-200503 y DID-UACH-S-200529

POS 03-36

Membrane organization and vasopressin-sensitive modulation of M1 and M23 isoforms of aquaporin-4 in epithelial cells. Claudia Silberstein, Richard Bouley, Dennis Brown, and Alfred Van Hoek. Renal Unit, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts.

Aquaporin-4 (AQP4) water channels exist as hetero-tetramers of M1 and M23 splice variants and appear to be present in orthogonal arrays of intramembraneous particles (OAPs) visualized by freeze-fracture electron microscopy. We demonstrated that the treatment with vasopressin perturbs the organization of OAPs in Brattleboro rat collecting duct principal cells. Stably transfected LLC-PK1 cells, expressing M23-AQP4 isoform, showed large OAPs, but none were detectable in cells expressing M1-AQP4. The organization into OAPs increases the single channel osmotic water permeability by one order of magnitude (Silberstein et al, AJ P 287: F501-F511, 2004). Here we report that the chronic incubation with lys-8-vasopressin plus forskolin (LVP/Fk) leads to differential increases of AQP4 isoform expressions in M1 (peaks after 1-day) and M23 (peaks after 3-days) stably transfected LLC-PK1 cells. Point mutation of serine-111 abolished LVP/Fk increased expressions of M1 and M23 isoforms. Somatic hybridization of M1 and M23 expressing cells showed incipient to small-sized quadrangular OAPs and a M1/M23 expression ratios close to unity. The number of these arrays was significantly increased after 1-day exposure to LVP/Fk as the result of increased expressions of both M1 and M23 isoforms. The increase of M23 expression (as well as M1 expression) under these conditions underlines M1's role to modify OAP formation and suggests that M1/M23 interaction enhances vasopressin-stimulated expression of M23 isoforms. We conclude that M1 and M23 isoforms display distinct vasopressin-sensitive behaviors. In addition, serine-111 is crucial for AQP4's ability to respond to vasopressin. Differential expression of the two AQP4 isoforms is one determinant for the higher order organization of AQP4 in the plasma membrane.

POS 03-37

The human umbilical artery presents a capacitative response induced by intracellular Ca^{2+} stores depletion and expresses transient receptor protein channels type 3 and 6. Nicolás Enrique, Silvia Salemme, Francisco Speroni, Alejandro Rebolledo, Laura Rimorini, Rocío Roldán Palomo, Silvana Petruccelli, Ricardo Drut, Verónica Milesi. Fac. de Cs. Exactas, Univ. Nacional de La Plata, and Hospital de Niños Sup. Sor María Ludovica, La Plata, Argentina.

In certain cell types, the depletion of intracellular Ca^{2+} stores triggers extracellular Ca^{2+} influx through non-selective cationic channels (NSCC) allowing the refilling of the stores, a phenomenon known as capacitative Ca^{2+} entry. The aim of this work was to explore the presence of this response in the human umbilical artery (HUA). Intracellular Ca^{2+} measurement in HUA segments using fura-4AM indicate that treatment with 1 μM thapsigargin, which produces sarcoplasmic reticulum depletion, induced a Ca^{2+} influx (Δ fluorescence ratio = 0.09 ± 0.01, $p<0.05$, n=5) which was blunted by 200 μM Gd^{3+}, a NSCC blocker (n=4). Using the single-channel patch-clamp technique in the cell-attached configuration, with a pipette and bath solution containing 140 mM K^+, we found that in HUA smooth muscle cells 5 μM thapsigargin increased the open probability of an ionic channel which carried an inward current measuring -0.41 ± 0.16 pA at a membrane potential of -40 mV (n=13). In cells not treated with thapsigargin the activity of this channel did not increase during a 20 min period (n=8). Similar results were obtained with cyclopiazonic acid, which also depletes the sarcoplasmic reticulum (n=9). Transient receptor protein channels (TRPC) are proposed in the literature to be involved in the capacitative response. Hence we studied if they were present in the HUA smooth muscle cells. Using specific antibodies, we demonstrated with immunohistochemical and western blot techniques the presence of TRPC types 3 and 6 and the absence of type 4. We conclude that this artery presents a capacitative response and expresses at least two types of channels which have been implicated in this mechanism.

POS 03-38

Demonstration of the presence of P/Q-type calcium channels (CaV 2.1) in human vascular smooth muscle cells by electrophysiological

techniques and western blot. Silvia Salemme, Alejandro Rebolledo, Nicolás Enrique, Laura Rimorini, Rocío Roldán Palomo, Silvana Petruccelli, Verónica Milesi. Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

P/Q-type Ca^{2+} channels have been extensively described in neurons, but have only recently been found in vascular smooth muscle cells. Our aim was to explore the presence of these channels in human vascular smooth muscle cells. The electrophysiological and pharmacological properties of Ca^{2+} current (I_{Ca}) were determined by the whole-cell configuration of the patch-clamp technique in smooth muscle cells from human umbilical artery (HUA). Using 5 mM extracellular Ca^{2+}, depolarizing step pulses from -60 to 50 mV from a holding membrane potential of -80 mV evoked an I_{Ca} which activated at membrane potentials more positive than -50 mV and exhibited a maximum current density in a range of 10-20 mV. Steady-state inactivation protocols using a V_{test} of 10 mV gave a voltage at one-half inactivation and a slope factor of -35.6 mV and 9.5 mV, respectively. The selective blocker of P/Q-type Ca^{2+} channels ω-agatoxin IVA partially blocked I_{Ca} (about 40 % inhibition at +20 mV by 20 nM). Moreover, nifedipine (1 μM), an L-type Ca^{2+} channels antagonist, completely inhibited I_{Ca}, while the L-type Ca^{2+} channels agonist Bay-K 8644 (1 μM) significantly increased I_{Ca} amplitude. These pharmacological results suggest that the I_{Ca} registered in HUA smooth muscle cells using low extracellular Ca^{2+} is carried not only by the classic L-type Ca^{2+} channels, but also by P/Q-type Ca^{2+} channels, and that they are both nifedipine-sensitive. The presence of P/Q channels was confirmed in endothelium-denuded HUA by western blot using specific antibodies against the CaV 2.1 (P/Q) alpha subunit. To the best of our knowledge, this is the first time that P/Q-type Ca^{2+} channels have been described in human vascular smooth muscle cells.

POS 03-39

Rol de la AQP2 en la regulación de la apoptosis en células renales. María del Pilar Flamenco, Luciano Galizia, Paula Ford y Claudia Capurro. Lab. Biomembranas, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

El paso inicial en el desencadenamiento de la apoptosis es una salida de K^+ de la célula la cual genera un gradiente osmótico que conduce a la pérdida de agua y el subsecuente achicamiento celular. A este evento se lo denomina AVD (*Apopototic Volume Decrease*). Pese a la importancia del AVD, poco se sabe acerca de las vías implicadas en la salida de agua. El objetivo de este trabajo fue evaluar la posible participación de los canales de agua (acuaporinas, AQPs) en el proceso de apoptosis. Utilizamos como modelo líneas celulares de túbulo colector cortical con características bien definidas: WT-$RCCD_1$, la cual no expresa AQPs, y AQP2-$RCCD_1$ que expresa constitutivamente AQP2 en la membrana apical. La apoptosis fue inducida incubando a las células 24 h con manitol (100 mOSM) o 7 h con cycloheximida (10 $\mu g.ml^{-1}$). La evaluación de la misma se realizó mediante la técnica de fragmentación del ADN y la de tinción con naranja de acridina-bromuro de etidio. La permeabilidad al agua ($P_f \times 10^{-4}$, $cm.s^{-1}$) fue medida por videomicroscopía de fluorescencia. Los resultados mostraron que ambas líneas celulares desarrollan apoptosis pero el % fue significativamente mayor en las células que expresan AQP2 (46% vs. 15%). En condiciones controles el valor de P_f de las células AQP2 fue significativamente mayor que el de las células WT (240 ± 69, n=61 vs. 4.01 ± 0.25, n=69, $p < 0.001$). En presencia de ambos estímulos apoptóticos ~30 % de la población celular de AQP2 mostró una marcada reducción del P_f a valores similares a los de WT control. El mayor % de apoptosis observado en presencia de AQP2 permite proponer que la alta permeabilidad de la membrana favorece la salida inicial de agua (AVD). Luego, la reducción del P_f, podría deberse a una inhibición de la AQP2, crucial para mantener baja la concentración de K^+ intracelular, fundamental para la activación de la cascada enzimática de la apoptosis.

POS 03-40

La hipotonía induce un aumento de Ca^{2+}_i dependiente de la acuaporina 2: implicancias en el mecanismo de regulación de volumen. Luciano Galizia, María del Pilar Flamenco, Claudia Capurro, Paula Ford. Lab. Biomembranas, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

Previamente demostramos en células renales de túbulo colector, que luego de un shock hipotónico, la presencia de acuaporina 2 (AQP2), en la membrana apical, es fundamental para una rápida activación de los mecanismos de regulación de volumen (RVD). Esta respuesta desaparece al incubar las células en un medio libre de calcio extracelular (Ca^{2+}_e). Con el fin de profundizar estos estudios evaluamos los cambios en la concentración de calcio intracelular (Ca^{2+}_i) en respuesta a un shock hipotónico (Δosm = 100 mOsM) en una línea celular de túbulo colector nativa ($RCCD_1$-WT) y transfectada con AQP2 ($RCCD_1$-AQP2). Para ello utilizamos la técnica de microscopía de fluorescencia. Las células se incubaron con Fura 2 durante 1 hora y se registró la relación de intensidad de fluorescencia a 340/380 nm (R_F). En las células $RCCD_1$-AQP2 se observó un aumento transiente en la concentración de Ca^{2+}_i con un pico máximo al minuto (R_F = 0.165 ± 0.028, n = 98). Esta respuesta disminuyó significativamente ($p < 0.001$) en ausencia de Ca^{2+}_e (R_F = 0.017 ± 0.010, n = 78). En las células $RCCD_1$-WT la respuesta fue significativamente menor independientemente de la presencia de Ca^{2+}_e. Concluimos que es necesaria la presencia de AQP2 y de calcio extracelular para producir un aumento del calcio intracelular en respuesta a un shock hipotónico. En función de los resultados mostrados y de nuestra evidencia previa, sugerimos que AQP2 en las células de túbulo colector renal, participarían en la modulación de

la concentración de calcio intracelular necesaria para activar rápidamente canales iónicos y transportadores que son fundamentales en el mecanismo de regulación de volumen luego de un shock hipotónico.

POS 03-41

Disminución de la permeabilidad osmótica al agua y de la expresión de Aquaporina-8 en membranas canaliculares de hepatocitos con colestasis por endotoxemia. Guillermo L. Lehmann, Flavia I. Carreras, Raúl A. Marinelli, Instituto de Fisiología Experimental IFISE-CONICET, Fac. Cs. Bioq. y Farmac, Univ. Nacional de Rosario, Rosario, Argentina.

La colestasis hepatocelular es una complicación frecuente de la sepsis bacteriana encontrándose asociada a alteraciones en la expresión de transportadores hepatobiliares. Previamente observamos que la expresión hepática de aquaporina-8 (AQP8) está disminuida en el modelo de colestasis inducida por lipopolisacárido (LPS) de *Salmonella tyiphimurium*. Nuestro objetivo fue evaluar la implicancia funcional de AQP8 en la falla secretoria biliar por LPS. Para tal fin se obtuvieron subfracciones enriquecidas en dominios de membrana canalicular por ultracentrifugación diferencial en gradientes de sacarosa a partir de hígados de ratas con colestasis por LPS (4 mg/kg i.v.) y sus respectivos controles. Estudios de inmunobloting revelaron una disminución significativa en los niveles de proteina AQP8 (-65%; $p<0,05$; n=3). Posteriormente se evaluó la permeabilidad osmótica al agua (P_f) por espectrofotometría de flujo detenido. Los valores de P_f se encontraron significativamente reducidos en un 24% (65 ± 1 *vs*. 49 ± 1 μm.seg-1; $p<0,05$; n=3). No se evidenciaron cambios significativos ni en el tamaño promedio de las vesículas canaliculares (176 ± 7 nm, n=1102 *vs*. 171 ± 5 nm, n=1050) ni en la actividad específica del marcador canalicular 5'-nucleotidasa (7,2 ± 2 *vs*. 7,9 ± 2 μmol Pi/h/mg proteina). Se concluye que en la colestasis por LPS existe una disminución en la expresión de AQP8 en la membrana canalicular de los hepatocitos que se corresponde con un descenso en la permeabilidad osmótica al agua. La disminución en la expresión canalicular de AQP8 podría contribuir como mecanismo fisiopatológico en la colestasis hepatocelular secundaria a sepsis.

POS 03-42

Bloqueo del canal de potasio rectificador entrante Kir2.1 por cloroquina. Aldo A. Rodríguez-Menchaca, Ricardo A. Navarro-Polanco, Jose A. Sánchez-Chapula, Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Colima, Colima, Mexico.

Los canales de rectificación entrante (Kir) desarrollan un papel importante en la génesis del potencial de acción cardiaco, una de sus funciones más importantes es en el mantenimiento de la meseta y en la aceleración de la repolarización de dicho potencial. La deleción genética del gen que codifica para el canal de K^+ de rectificación entrante (Kir2.1) prolonga el potencial de acción en ratones. En principio, un aumento en la duración del potencial de acción cardiaco, alargaría el intervalo QT, lo que podría inducir arritmias. Cloroquina, un antimalárico de primera elección, ha sido asociado con efectos cardiovasculares adversos incluyendo arritmias cardiacas. Parte de estos efectos han sido atribuidos al bloqueo de los canales de rectificación entrante (Kir2.1) y el rectificador tardío rápido (HERG). La implicación del bloqueo del canal Kir2.1 en los efectos proarrítmicos de la cloroquina nos motivó a caracterizar las propiedades del bloqueo del canal por este fármaco. En células HEK293 registrando bajo la técnica de fijación de voltaje en la modalidad de *inside-out* (lado interno hacia fuera) y en ausencia de Mg^{2+} y poliaminas, el efecto bloqueador de cloroquina fue fuertemente dependiente de voltaje, mayor bloqueo de la corriente saliente que de la corriente entrante. Para identificar el sitio o los sitios importantes en el bloqueo por cloroquina realizamos mutaciones puntuales en cada uno de los aminoácidos del segmento M2 que dan hacia la cavidad interna del poro plasmático y en algunos residuos localizados en el vestíbulo citoplásmico, identificados previamente como claves en el bloqueo por cationes intracelulares. Las mutaciones fueron realizadas sustituyendo el residuo correspondiente por alanina Al sustituir un glutamato en la posición 224 y una fenilalanina en la posición 254 disminuye notablemente la potencia del bloqueo por cloroquina, por lo que al parecer estos residuos son críticos en la inhibición del canal por este fármaco. SEP-CONACyT proyecto No. 2004-47577.

POS 03-43

Canal de sodio epitelial (ENaC) del endotelio modularía la actividad NOS en arterias de resistencia de rata. Francisco Pérez, Luis Michea, Laboratorio de Fisiología Integrativa y Molecular, Facultad de Medicina, Universidad de los Andes, Chile

El canal de sodio epitelial (ENaC) es un canal multimérico, formado por tres subunidades (α, β, γ). ENaC se encuentra principalmente en los riñones, además de colon y pulmones, y su papel es la reabsorción de sodio. Recientemente se ha descrito la expresión de ENaC células del músculo liso de arterias cerebrales y renales, y debido a la participación de canales de la misma familia en la mecanotransducción de otras especies, ha sido postulado como una nueva vida de entrada de sodio en este tipo de células. Sin embargo, también se ha demostrado mRNA en células endoteliales en cultivos HUVECs. El objetivo del presente estudio fue analizar la función de ENaC arterial sobre la respuesta vasoconstrictora de arterias de resistencia. Mediante RT-PCR con partidores específicos, se detectó la presencia de mRNA de las tres subunidades ENaC en arterias mesentéricas de la rata y en células endoteliales en cultivo primario. El papel de ENaC en la vasoconstricción se analizó mediante cambios en el diámetro arterial por curvas dosis respuesta a fenilefrina (10^{-8} - 10^{-4} M) y serotonina (10^{-9} - 10^{-4} M), en arterias mesentéricas de primer y segundo orden, presurizadas y prefundidas en condicio-

nes fisiológicas. La presencia de inhibidores farmacológicos ENaC (Benzamilo 1 μM; Amilorida 0,5-1 μM) inhibió dramáticamente la respuesta contráctil a ambas sustancias (25.3% ± 6.1 y 75.1% ± 3.2 de inhibición respectivamente, n= 5,6; $P<0.01$). La remoción mecánica del endotelio o el tratamiento con el inhibidor farmacológico de la óxido nítrico sintetasa (LNNA 100 μM), bloquearon completamente el efecto de los inhibidores farmacológicos de ENaC. Experimentos realizados con estimulación con KCl (60 mM) generan vasoconstricción, la cual no es inhibida por benzamilo (1 μM). Estos resultados indican por primera vez que ENaC endotelial modula la respuesta vasoconstrictora en arterias de resistencia a través de la inhibición de la producción de NO endotelial. FONDECYT 1050690

POS 04
Enseñanza de la fisiología
Teaching Physiology

POS 04-01

Seminario Estudiantil Reinartz: Propuesta metodológica de enseñanza, aprendizaje y valoración académica de la fisiología. Mónica Reinartz, Profesora asociada Universidad Nacional de Colombia. Verónica González, Zootecnista. Medellín.

Los cambios curriculares y las nuevas tendencias pedagógicas han generado múltiples interrogantes a nivel de la enseñanza de las ciencias básicas, especialmente en la fisiología. Una de las principales preguntas es la siguiente:¿ Cómo integrar la teoría y la práctica? La propuesta metodológica del Seminario Estudiantil Reinartz demuestra que esto es posible usando como conector entre lo práctico y lo teórico a la creatividad. A través de ella se logran vincular los conceptos de enseñanza, aprendizaje y valoración (evaluación) académica con los procesos de investigación. El seminario ha sido implementado en el curso de Fisiología Animal en Zootecnia en la Universidad Nacional de Colombia en Medellín, con estudiantes del quinto nivel. Se han obtenido los siguientes resultados: independencia intelectual, autonomía, autoevaluación, autorregulación en la formación integral del estudiante y se ha incentivado su creatividad. También se ha desarrollado la competencia lectora y de escritura de documentos científicos y se estimula el trabajo en equipo y el respeto por el otro. Palabras claves: Seminario Estudiantil Reinartz, teoría-práctica, creatividad,autorregulación.

POS 04-02

Enseñanza de la Fisiología desde la perspectiva del pensamiento complejo. Rolando Pablo Juárez. Cátedra Fisiología Humana. Facultad de Odontología. Universidad Nacional del Nordeste.

En América Latina, el modelo hegemónico educativo universitario en Ciencias de la Salud sigue el ideario positivista, caracterizado por un modelo biologista, reduccionista, disciplinario, tecnocrático y autoritario. Esta concepción nos lleva a una excesiva especialización que mutila y fragmenta el conocimiento en unidades estancas, entorpeciendo la comprensión de la complejidad de la naturaleza y desfigurando la realidad. Los objetivos que se marca la enseñanza de la Fisiología actualmente se dirigen a superar el pensamiento simplificador, estudiando a los seres vivos con toda su diversidad y complejidad. Reconocer lo inacabado e inconcluso de todo conocimiento, abre puertas a un camino expedito hacia la estructuración multidimensional de la disciplina, lo cual requiere de parte del docente una relativa experiencia en dinámicas interdisciplinarias y una visión transdisciplinaria. En las profesiones de la salud se debe aplicar un enfoque integral e integrador, desde la mirada biosistémica que admite la peculiaridad de lo viviente. El cuerpo humano pertenece al campo de los sistemas complejos, correspondiendo ser asimilado desde el pensamiento complejo mediante el aprendizaje significativo. La educación tradicional basada en la fragmentación y reproducción de información está agotada. La comunidad educativa debe favorecer el pensamiento crítico y la imaginación, buscando nuevos interrogantes y programaciones viables. En un contexto de mutación planetaria, la reflexión sobre la complejidad de los procesos puede ser la solución. Concluyendo, citaré a Edgar Morin: *"El pensamiento complejo no resuelve en sí mismo los problemas, pero constituye una ayuda para la estrategia que puede resolverlos."*

POS 04-03

Experiencia integral de articulación entre dos niveles educativos: Polimodal – Universidad. Ramos I, Medina MF, Crespo CA, Cisint S, Fernández SN. Instituto de Biología, Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia. Universidad Nacional de Tucumán (UNT). Argentina.

Articulación, en el sistema educativo, es la interrelación entre niveles de enseñanza con el propósito de no producir rupturas en el proceso de formación del educando. Considerando que la articulación puede plantearse desde lo que se enseña y aprende en un nivel, con lo que se enseña y aprende en el siguiente, nuestro equipo de trabajo (docentes-investigadores de la Fac. de Bioq, Qca y Farm de la UNT) inició, en 1999, un trabajo de articulación curricular con tres Instituciones de gestión privada. Así, mediante Convenios de Intercambio y Cooperación, se propuso como objetivo la implementación de estrategias metodológicas innovadoras a fin de favorecer el desarrollo de competencias propias de la disciplina Fisiología y propiciar el aprendizaje significativo. Se usaron distintas metodologías de trabajo áulico: clases teóricas, trabajos de laboratorio, conferencias, desarrollo de proyectos de investigación, talleres y pasantías. Las actividades fueron aplicadas en forma secuencial en el ciclo Polimodal, en base al conocimiento de los estudiantes en Fisiología y el nivel en otras materias del área Ciencias Naturales. Los contenidos curriculares seleccionados para las actividades fueron los diagnosticados como problemáticos o de difícil aprendizaje seleccionándose como ejes temáticos fisiología celular y de los sistemas de órganos. El trabajo realizado fue permanentemente evaluado y de los resultados obtenidos se desprenden los siguientes logros: a- Autonomía en la selec-

ción y manejo de fuentes de información; b- Progresiva adquisición de capacidad para realizar experiencias de laboratorio; c- Idoneidad en la transferencia oral y escrita de los conocimientos adquiridos; d- Competencia para afianzar o modificar su orientación vocacional. En síntesis las estrategias metodológica empleadas brindaron a los alumnos la posibilidad de vivenciar el hacer científico que se desarrolla dentro del nivel superior que se puso en evidencia en la excelente respuesta de los jóvenes ante las exigencias académicas.

POS 04-04

Análisis bibliométrico preliminar de la producción científica de cinco países latinoamericanos en el área de Fisiología. Julieta Rodríguez, Pablo Alfaraz, Amalia Calviño . Cátedra de Fisiología, Fac. Farmacia y Bioquímica, Univ de Buenos Aires e IQUIMEFA, CONICET, Argentina.

El análisis de la producción científica mediante indicadores bibliométricos permite describir, evaluar y monitorear el desarrollo científico y tecnológico. Los objetivos de este estudio consisten en analizar para el área de Fisiología la producción científica de difusión internacional de cinco países (Argentina, Brasil, Chile, México y Venezuela) de América Latina (AL), durante el período 2000-2004 y evaluar el grado de cooperación científica de cada país a nivel nacional, regional e internacional. La estrategia de búsqueda recuperó todos los registros indizados para cada país en el campo dirección de la base de datos Science Citation Index (SCI) en la versión on-line del Web of Science. Se recuperó un total de 1443 registros correspondiendo a Argentina (18,7%), Brasil (40,5%), Chile (20,3%), México (16,9%) y Venezuela (3,6%) del total de los registros. El tipo de documento predominante es el artículo publicado en las revistas de corriente principal indizadas por ISI seguido por abstracts, trabajos de revisión y notas. La distribución de registros por país y por año muestra tendencias de crecimiento lineal para Brasil ($r^2 = 0.79$, $p = 0.04$) y México($r^2 = 0.86$, $p = 0.02$). Se observan magnitudes similares de trabajos nacionales (una o más instituciones del mismo país) e internacionales: trabajos en colaboración con USA/Canadá (A), España (E) u otros países de la Unión Europea (UE) y una mínima colaboración entre los países estudiados ($p < 0.01$), asimismo la colaboración con A supera a la lograda con E ($p < 0.01$) pero no se diferencian del aporte de UE. Estos resultados confirman que los cinco países muestran patrones similares de producción científica y redes de vinculación en esta área. Trabajo financiado por la Programación UBACYT 2004-2007 (B039).

POS 04-05

Incorporación de la teoría de la complejidad a la enseñanza de la fisiología: el caso del momento hemostático, Nicolás Kreplak, Pablo Arias, Leonel Tesler, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

Antecedentes: 1) La Fisiología, en la mayor parte de los libros de texto y en numerosas cursadas, aparece dividida en compartimentos estancos; 2) los modelos de causalidad lineal resultan insuficientes para explicar la mayor parte de los fenómenos fisiológicos; 3) la aplicación de la teoría de la complejidad al análisis de la evidencia clínica y básica acumulada en los últimos años aporta herramientas para la construcción de modelos fisiológicos más verosímiles y de mayor poder predictivo. **Objetivos:** 1) Problematizar el estudio de la fisiología por sistemas aislados; 2) proponer la incorporación del pensamiento complejo en la enseñanza de la fisiología; 3) presentar un ejemplo de concepto fisiológico complejo. **Materiales y métodos:** 1) Utilizamos el estudio de la hemostasia como ejemplo; 2) discutimos su definición y describimos los procesos y fenómenos que suelen atribuírsele, destacando su carácter lineal y su presentación disecada del organismo vivo en la enseñanza tradicional; 3) definimos los participantes de los fenómenos hemostáticos formando parte de un sistema abierto; 4) indagamos sus múltiples determinaciones en el contexto de un ser humano. **Resultado:** Surgimiento del concepto de momento hemostático, entendido como el estado del sistema hemostático resultante de las múltiples determinaciones que rigen las interacciones entre sus componentes.

POS 04-06

Fisiología en la Formación de Bioingenieros: Una Experiencia de Aprendizaje Basado en Proyectos. Carlos Berns, José L. Favant, María T. Juárez, Liliana Mendez Castell, Susana Perrone, Raúl Rodríguez, Daniel Zapata. - Lab. de Fisiología y Biofísica "Antonio S. Frumento", Fac. de Ingeniería, Univ. Nacional de Entre Ríos, Argentina.

En la carrera de Bioingeniería de la Universidad Nacional de Entre Ríos, la asignatura Fisiología y Biofísica constituye la primera instancia curricular integradora de los contenidos desarrollados en las materias de los primeros tres años del plan de estudios. Los contenidos deben ser abordados desde una perspectiva especial, ya que los aspectos biológicos deben ser integrados en la formación de un ingeniero. Por otra parte, los textos de nivel de grado disponibles desarrollan sus contenidos con una óptica fundamentalmente biológica y clínica, con poco énfasis en los aspectos físicos, químicos, matemáticos, electrónicos e informáticos propios de la ingeniería. En el sistema educativo actual se han venido desarrollando acciones centradas básicamente en la transferencia de información. Sin menoscabo de esto, lo vertiginoso del cambio actual de la ciencia y la tecnología, hace que los alumnos necesiten cada vez más acceder a herramientas que le permitan buscar la información, seleccionarla, organizarla, interpretarla y darle sentido. Es decir construir conocimiento en forma independiente y activa a través de lo que ellos mismos hacen, más que a través de lo que hacen sus docentes. En base a ello se han desarrollado el programa actual Fisiología y Biofísica y las estrategias pedagógicas adecuadas para llevarlo a cabo. Una de ellas es el Trabajo Integrador Final (TIF), que constituye la última etapa

del proceso de enseñanza-aprendizaje de la asignatura. Los TIF son proyectos cooperativos en los que, a través del desarrollo de un dispositivo, aplicación o investigación, se promueve la integración de contenidos permitiendo un trabajo interdisciplinario y promoviendo actitudes y habilidades cognitivas de orden superior. El proyecto se convierte en el eje del aprendizaje y, durante el desarrollo del trabajo en equipo, e los estudiantes se ven enfrentados -quizás por primera vez en su carrera- a un desafío intelectual y psicológico de complejidad considerable, dada su multidimensionalidad. Formalmente, los objetivos de los TIF son: estimular el trabajo grupal y solidario; integrar conceptos de Fisiología y Biofísica, enfatizando en las funciones regulatorias; facilitar la comprensión de los mecanismos homeostáticos y su impacto en el funcionamiento del organismo; realizar desarrollos, experiencias de laboratorio y/o trabajos de campo para el aprendizaje de la temática seleccionada; promover la adquisición de metodología acorde al trabajo a desarrollar y adquirir habilidades en la presentación escrita y oral de informes técnico-científicos.

POS 04-07

Desarrollo de competencias de la fisiología relacionadas con la salud y el bienestar de la sociedad. Néstor Millen, María del Carmen Contini, Marcela González, Stella Mahieu. Cat. Fisiología Humana. Facultad Bioquímica y Cs Biológicas. UNL. Santa Fe. Argentina.

Es común que los estudiantes de bioquímica no lleguen a comprender y valorar el amplio contexto de la fisiología en lo que respecta a su relación con otras ciencias, así como con la salud, la realidad y bienestar social. Estos últimos aspectos están latentes en el conocimiento ordinario, constituyendo un "currículo oculto" de la asignatura que generalmente no es incluido como tal durante el proceso enseñanza-aprendizaje. Esto nos llevó a arbitrar un recurso didáctico que ofrezca al estudiante la posibilidad de incursionar sobre dichos aspectos. Con este propósito se adoptó el desarrollo de un tópico generativo ***Crecimiento y Desarrollo***, tema que presenta amplias conexiones con diferentes aspectos de la Fisiología. Dicho tópico permitió, dentro de los Proyectos de Extensión Educativa que desarrolla la UNL, la realización de trabajos de campo en barrios periféricos, donde el alumno pudo incursionar en las competencias vinculadas con la salud y la realidad social. Los alumnos participantes desarrollaron experiencias en determinaciones bioquímicas, medidas antropométricas y análisis de los datos obtenidos relacionándolos con conceptos disciplinares diversos, integrando teoría y práctica en la construcción del conocimiento. El trabajo de campo, permitió que los alumnos analizaran la influencia del medio sobre el crecimiento, desarrollo, salud y bienestar de niños de barrios marginales con una elevada vulnerabilidad, ya que viven con condiciones epidemiológicas, socioeconómicas, culturales y ambientales desfavorables. El aprendizaje en servicio permite lograr simultáneamente dos objetivos: por un lado mejorar los aprendizajes y por otro plantear una respuesta participativa a una necesidad social en crecimiento. El desarrollo de trabajos prácticos solidarios aumenta la motivación para aprender y el sentido de responsabilidad personal, la autoestima y la eficacia de los alumnos.

POS 04-08

Avaliação temporal do desempenho de alunos do Curso de Biologia-CCBS-UPM- em conteúdos de Biologia Celular e de Fisiologia Comparativa. *Olga M.Mimura, *Yur M.e S. Tedesco, ●Maria Regina M.Mimura. *Biologia - CCBS - Universidade Presbiteriana Mackenzie, São Paulo, Brasil. ●E.E. Murtinho Nobre, São Paulo, Brasil.

Considerando a preocupação da América Latina com a independência científica e tecnológica, os governos de alguns países têm avaliado o desempenho das Instituições do Ensino Superior-IES-,principalmente nas privadas, visando qualificação para o mercado global de trabalho, cada vez mais competitivo. A disciplina de Biologia Celular, incluída na 1 ª etapa do Curso de Biologia, tem como um dos objetivos subsidiar a Fisiologia Animal Comparativa das 5ª e 6 ª etapas, respectivamente. Para isto, aborda componentes celulares e trocas entre meio intra e extracelular, enfocando a estrutura e função da membrana; comunicações celulares por ligantes e receptores, sua influência nos processos de movimentação celular executados pelos microfilamentos e microtúbulos. O objetivo deste trabalho foi avaliar, comparativamente, o aproveitamento dos estudantes de Biologia -CCBS-UPM, IES privada, comunitária, nos conteúdos das disciplinas citadas, em 3 anos (Biologia Celular - 2001, 2002 e 2003 e Fisiologia Comparativa-2003, 2004 e 2005). Para tal foi analisado o desempenho temporal através das médias finais. As de Biologia Celular foram: 6,007 $\pm$ 1,58; 6,121 $\pm$ 1,47; 6,003 $\pm$ 1,60 nos de 2001, 2002 e 2003 e as de Fisiologia Comparativa: 6,536 $\pm$ 1,25; 5,910 $\pm$1,16; 6,592 $\pm$ 1,38 nos anos de 2003, 2004 e 2005. Não houve diferenças significativas, entre as disciplinas, nos anos pareados. Pelos dados analisados verificou-se um desenvolvimento semelhante, em ambas disciplinas, o que nos leva a admitir que os conhecimentos adquiridos na primeira etapa, contribuem para a consolidação daqueles das quinta e sexta etapas.

POS 05
Neuro-Inmuno-Endocrinología
Neuro- Immuno- Endocrinology

POS 05-01

Efeitos protetores da prolactina em cultivo primário de astrócitos infectados com *vírus Oropouche*. Daisy Elaine Andrade da Silva[1], Andréa Monteiro[1], José Antonio Diniz[2], Pedro Vasconcelos[3] Domingos Picanço Diniz[1], [1]Lab. Neuroendocrinologia, Depto de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas, Univ Federal do Pará, Brasil. [2]Seção de Microscopia Eletrônica, [3]Seção de Arbovírus, Instituto Evandro Chagas, Brasil.

O *vírus Oropouche* (familia *Bunyaviridae*) é um agente infeccioso emergente que tem causado numerosas epidemias de "febre do *Oropouche*" no Brasil, Peru e Panamá. A "febre do *Oropouche"* constitui uma das arboviroses de maior importância em saúde pública na região Amazônica. Cultivos primários de astrócitos (CPA) possuem susceptibilidade à infecção deste vírus, como também, frente a alguns agentes estressogênicos podem ser protegidos pela prolactina (PRL). O trabalho tem como objetivo avaliar se esses efeitos protetores da PRL ocorrem após infecção com *vírus Oropouche*. CPA foram inoculados com diferentes diluições do *vírus Oropouche* (1:12,5, 1:25, 1:50, 1:100) e tratados, separadamente, com diferentes concentrações de PRL (0,1; 0,5; 1 e 10nM), a diferentes intervalos de tempo (24, 48 e 72 horas). Os resultados demonstraram que o efeito citopático (ECP) dos CPA evoluiu dependente da diluição viral e do tempo. No entanto, a viabilidade celular, medida por 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo tetrazólio (MTT), diminuiu somente na concentração de PRL 10nM, nas 48 e 72 horas. Quando os CPA foram tratados com PRL (1nM) e inoculados com vírus (1:25) conjuntamente, observou-se uma atenuação do ECP observada na viabilidade celular e na expressão do GFAP (glial fribrillary astrocytic protein), em relação ao CPA inoculado apenas com *vírus Oropouche* (1:25), no tempo de 24 horas. Este trabalho demonstrou que o vírus estudado causou ECP nos CPA, nas diferentes diluições utilizadas, e que a PRL na concentração de 1nM atenuou a ação viral na diluição de 1:25 do vírus, no tempo de 24 horas.

POS 05-02

Ovariectomy impairs memory in rats: protection by soy isoflavones. Juliana Ben, Siomara C. Monteiro, Cristiane Bastos de Mattos and Angela T. S. Wyse. Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, RS, Brasil.

Estrogen deprivation is implicated in cognitive deficits. Soy isoflavones are phytoestrogens that mimicking estrogen effects in brain. Considering that previous studies have shown that ovariectomy impairs spatial reference learning/memory, in the present study we investigated the influence of the diet with soy isoflavones on the memory impairment caused by ovariectomy in adult rats. Female adult Wistar rats were assigned to one of the following groups: sham (only submitted to surgery without removing of ovaries) and ovariectomized. Seven days after surgery, animals were feed for 30 days with a standart diet with casein (control) or a special diet with soy isolated protein (1,89 mg isoflavones/g soy protein). After, the rats were submitted to a spatial navigation tasks in the Morris water maze. Results showed that the soy isoflavones were effective to reverse the impairment of spatial navigation caused by ovariectomy. We presume that these phytoestrogens may have a protective role against the damage brain caused by ovariectomy on spatial memory in female adult rats. Assuming that hormone deprivation might also impair cognition in women, our results lend support to a novel therapeutic strategy, based on soy isoflavones, to cognitive deficits found in postmenopausal women. **Supported by:** CNPq and PROPESQ/UFRGS

POS 05-03

Sexual dimorphism in the dendritic morphology of neurons from the rat medial amygdala. Aline Dall'Oglio, Günther Gehlen, Matilde Achaval, Alberto A. Rasia-Filho, Postgraduation in Neuroscience, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Dept. Physiolo-gical Sciences, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas, Porto Alegre, Brazil.

The rat medial amygdala (MeA) is a sexually dimorphic area that is implicated with the emotional processing and modulation of sex-specific activities, such as reproductive behaviors. The MeA has been divided in subnuclei, i.e., the anterodorsal (MeAD), the posterodorsal (MePD) and the posteroventral (MePV) ones. The aim of this study was to reveal the dendritic morphology of neurons from these MeA subnuclei by describing, quantifying, and comparing them between sexes. Animals were adult male and diestrus female rats, which provided neurons impregnated by the single-section Golgi method. Data were described based on camera lucida drawings and from 14 and 21 neurons from the MeAD, 17 and 19 neurons from the MePD, and 16 and 15 neurons from the MePV of males and females, respectively. In addition, 10 neurons of each subnuclei and from each sex were photomicrographed in order to build schematic dendrograms. Dendrites showed very different path lengths and diameters in the different MeA subnuclei of

male and females. Sexual dimorphisms were found in the MeAD in the relative number of second order dendrites (higher in females) and in the spatial distribution of dendrite branches in all subnuclei, that is, more dendritic branches were oriented medially ($p=0.023$) and laterally ($p=0.013$) in males and ventromedially ($p=0.001$) in females in the MeAD; medially ($p<0.001$) in males and dorsally ($p=0.002$) and ventromedially ($p=0.001$) in females in the MePD; and, medially ($p<0.001$) and mediodorsally ($p=0.004$) in males and ventrally ($p<0.001$) in females in the MePV. These peculiar pattern of dendritic trees orientation and the action of sex steroids upon them can be relevant for the understanding of the hodological features and intrinsic cellular activity that coordinate complex dynamic and stereotyped sexually dimorphic behaviors of rats modulated by MeA subnuclei.

POS 05-04

Secreción de neuroesteroides: andrógenos y estrógenos durante el desarrollo del cerebro de borrego. Yolanda Gómez[1], Esther Bautista[1], Marta Romano[2]. [1]Dpto. Bioprocesos Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional. [2]Dpto. Fisiología, Biofísica y Neurociencias CINVESTAV-IPN, México.

En el presente trabajo de investigación se cuantifico la secreción de los neuroesteroides; testosterona y 17ß-estradiol durante el desarrollo del lóbulo frontal, hipotálamo, cerebelo y medula espinal de fetos de borrego por radioinmunoanalisis (RIA).Los fetos fueron recibidos en una solución amortiguadora de fosfatos libre de Ca^{2+} y Mg^{2+} (PBS) fría. Durante la disección cada estructura fue lavada y limpiada de las adherencias, de vasos sanguíneos y sangre .La disocian enzimática de las estructuras se realizó con tripsina al 0.1%, a 37°C, durante 10 min. La acción de esta enzima se detiene con inhibidor de tripsina al 0.50% .A continuación se incuban alícuotas de células de cada estructura en 2 ml de medio de incubación Dulbecco con alto contenido de glucosa, 0.1% de BSA bajo una atmósfera de 95% de aire a 37°C, durante 2h. Una vez terminado el tiempo de incubación, ésta se detiene con 10 ml de éter etílico frío. Se realiza la extracción de los esteroides. Finalmente la testosterona (T)y 17ß-estradiol (E_2)se cuantificada por RIA y el resultado expresado en pg/mg de proteína total. La cuantificación de proteínas fue por el método de Lowry. La concentración de T en el lóbulo frontal fue alta (50 pg/mg de proteína) en los fetos de 10cm y 30cm de longitud coronilla-rabadilla (C-R), en tanto que en los tamaños intermedios solo secretaron 20pg/mg de proteína. Por otro lado las hembras secretaron entre 15 y 20 pg/mg de proteína/ testosterona en las edades estudiadas. La secreción de E_2 en el lóbulo frontal de machos y hembras fue similar de 15pg/mg de proteína. En el hipotálamo de los machos y hembras la mayor concentración de T y E_2 fue en los fetos más jóvenes (120pg de T y E_2 en machos y 90pg T y E_2 en hembras). 40 pg fue la concentración de T y E 2 en cerebelo de los machos de 16 cm mientras que la de E2 fue de 18 pg/mg de proteína en las hembras. En la médula espinal de los machos la concentración de T fue de 50 pg en el feto de 29 cm.

POS 05-05

Efeito protetor da prolactina em cultivos astrócitos expostos ao metilmercúrio. Andréa Monteiro[1], Sueli Kataoka[3], José Antônio Diniz[3], Luís Antônio Maués[2], José Antônio Diniz[3], José Luiz do Nascimento[2], Domingos Luiz Picanço Diniz[1], [1]Lab. de Neuroendocrinologia, [2] Lab. de Neuroquímica - Dep. de Fisiologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará e [3]Seção de Microscopia Eletrônica, Instituto Evandro Chagas, Pará, Brasil.

O metilmercúrio (MeHg) é um composto comprovadamente neurotóxico cujos mecanismos degenerativos ainda não estão bem esclarecidos. No sistema nervoso central, o MeHg é seqüestrado do interstício preferencialmente por astrócitos diminuindo a carga de exposição neuronal. Apesar de sua resistência, a morte celular ocorre preponderantemente por necrose como resultado do estresse oxidativo provocado pelo metal. Estudos *in vitro* demonstraram que a prolactina (PRL) possui efeitos mitogênicos sobre astrócitos, além de regular a expressão de citocinas pró-inflamatórias. Adicionalmente, a PRL produziu efeitos protetores sobre astrócitos cultivados e expostos ao etanol. Com o objetivo de avaliar se estes efeitos protetores da prolactina poderiam ocorrer em resposta a exposição ao MeHg, foi padronizado cultivo de astrócitos com subseqüente exposição a 5 µM de MeHg associado ou não a 1 nM de PRL, além do grupo controle (sem MeHg e PRL) e PRL a 1 nM. Em seguida, foram realizados os ensaios de medida da viabilidade celular por 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo tetrazólio (MTT) e ensaio de imunofluorescência indireta anti-GFAP. Os resultados obtidos demonstraram que a PRL na concentração de 1 nM foi hábil em atenuar os efeitos tóxicos do MeHg sobre a viabilidade celular, a expressão de GFAP, e também sobre aspectos morfológicos observados por fotomicroscopia de contraste de fase. Desta forma, conclui-se que a PRL pode atuar como um agente protetor atenuando os efeitos citotóxicos do MeHg em astrócitos *in vitro*.

POS 05-06

Protective effect of vitamins E plus C on hippocampal Na^+,K^+-ATPase and acetylcholinesterase activities of ovariectomized rats. Siomara C. Monteiro, Emilene B. Scherer and Angela T. S. Wyse. Departamento de Bioquímica, ICBS, UFRGS, RS, Brasil.

Considering that previous studies from our laboratory showed that ovariectomy rats presented an activation of brain Na^+,K^+-ATPase and acetylcholinesterase (AChE) activities and that vitamins E plus C prevented the impairment of memory caused by ovariectomy, in the present study we investigated the influence of vitamins E plus C on the effects elicited by ovariectomy on these hippocampal enzymes activities in adult rats. Female

adult Wistar rats were assigned to one of the following groups: sham (only submitted to surgery without removing of ovaries) and ovariectomized. Seven days after surgery, animals were treated for 30 days with a single daily intraperitoneous injection of saline (control) or vitamins E plus C. The rats were killed and the hippocampus was dissected. Results showed that the ovariectomy increased the activities of Na^+,K^+-ATPase and AChE and that vitamins E plus C were effectives to reverse the enzymes activation in hippocampus of ovariectomized rats. We presume that these antioxidants may have a protective role against the damage brain caused by ovariectomy since Na^+,K^+-ATPase and AChE are important enzymes to normal brain function. Our findings suggest that vitamins E plus C could be a good alternative to a novel therapeutic strategy to postmenopausal women. **Supported by:** CNPq and PROPESQ/UFRGS

POS 05-07

Efecto agudo del 4-MBC sobre la regulación neuroendocrina del eje gonadal en ratas macho adultas. Carou ME., Cardozo Gutierrez R., Szwarcfarb B., Deguiz ML., Reynoso R., Carbone S., Moguilevsky J. A., Scacchi P., Ponzo O. J. Inst. de Fisiología - Facultad de Medicina - U.B.A.

El disruptor endocrino 4-methyl-benzylidene-camphor (4-MBC) es utilizado en pantallas solares y tendría sobre el sistema reproductor un efecto estrogénico. Hemos demostrado que altas dosis de este disruptor inhibe este eje durante el desarrollo puberal cuando es administrado durante la etapa embrionaria. Objetivo: evaluar el efecto de la exposición a bajas dosis de 4-MBC sobre la regulación neuroendócrina gonadal en ratas macho adultas. Materiales y métodos: Ratas Wistar macho de 70 días de edad, fueron inyectadas sc con 4-MBC 2 y 10 mg/kg/día (MBC 2 y 10) durante 5 días y con 4-MBC 2 y 20 mg/kg/día (MBC 2 y 20) durante 2 días consecutivos. Fueron sacrificadas al día siguiente de la última inyección (n= 7-10 por grupo) y se recolectó la sangre troncular para la determinación de LH, FSH y prolactina. En las ratas inyectadas durante 2 días se disecaron además los hipotálamos anteromediobasales que se incubaron durante 60 minutos en buffer de Earle´s, para la determinación de GnRH. Resultados: Se observó un descenso en los niveles séricos de LH con la administración de 4-MBC durante 5 días (Co: 58.71 ± 4.47, MBC 2: 42 ± 2.13 $p<0.01$, MBC 10: 43.67 ± 2.28 ng/ml $p<0.02$) y FSH (Co: 341.25 ± 14.45, MBC 2: 232.86 ± 6.8 $p<0.001$, MBC 10: 180 ± 20.82 ng/ml $p<0.001$). No hubo cambios significativos en la prolactinemia. En las ratas expuestas a 4-MBC durante 2 días se observó una reducción de la liberación de GnRH (Co: 6.37 ± 1.8, MBC 2: 1.74 ± 0.38 $p<0.05$, MBC 20: 1.94 ± 0.84 pg/10mg de tejido $p<0.05$), de los niveles séricos de LH (Co: 70 ± 4.83, MBC 2: 39 ± 1.53 $p<0.001$, MBC 20: 41 ± 1.77 ng/ml $p<0.001$) y FSH (Co: 250 ± 51.48, MBC 2: 88.13 ± 40.83 $p<0.05$, MBC 20: 238.57 ± 22.72 ng/ml). Conclusión: El 4-MBC administrado en forma aguda a bajas dosis inhibe el eje gonadal en ratas macho adultas. La prolactina no se ve afectada.

POS 05-08

Influencia da progesterona em comportamentos de ratas lactantes. [1]Sousa, F. L.; [2]Silveira, J. F. M.; [2]Rabaioli, D.; [2]Giovenardi, M.; [1]Lucion, A. B.; [1]Fisiologia, UFRGS; [2] Neurociências, UNISINOS.

A progesterona plasmática é mais elevada na lactação do que em ratas não lactantes. Resultados do nosso laboratório sugerem o envolvimento da progesterona na modulação de comportamentos em ratas lactantes. Neste estudo avaliamos o envolvimento dos hormônios ovarianos na modulação dos comportamentos de ratas no início da lactação. Em dois experimentos foram registrados comportamentos de ratas lactantes que sofreram ovarectomia ou cirurgia fictícia no primeiro dia pós-parto. No 1º experimento o comportamento maternal foi resgistrado do 2º ao 7º dia e no 8º as mesmas ratas foram testadas no labirinto em cruz elevado. No 2º experimento o comportamento agressivo-maternal foi registrado no 6º dia pós-parto e no 8º dia as mesmas ratas foram testadas no campo aberto. Resultados foram expressos por média (±EPM) e comparados por um teste *t* de Student ($p<0,05$) e mostram queda significativa nas freqüências dos comportamentos de lamber os filhotes, lamber filhotes com dorso arqueado e ataques frontais das mães sem ovários (40±3,0, 21±1,5 e 1,7±0,35 respectivamente) em relação às com ovários (49±3,3, 29±2,8 e 3,9±0,99 respectivamente). Houve também aumento significativo nas freqüências de filhotes fora do ninho e latência (s) de entrada no centro do campo aberto das ovarectomizadas (72±13 e 130±38 respectivamente) em relação às que sofreram cirurgia fictícia (28±7,7 e 42±9,2 respectivamente). A ovarectomia no 1º dia pós-parto provocou alterações comportamentais em ratas lactantes nos primeiros oito dias de vida dos filhotes.A queda na freqüência de lambidas nos filhotes combinada com o aumento da freqüência destes fora do ninho sugere uma redução dos cuidados da mãe em relação à prole.A diminuição na freqüência de ataques frontais indica uma redução da agressividade e o aumento da latência de entrada no centro do campo aberto sugere elevação nos níveis de ansiedade/medo. Assim, a progesterona pode estar envolvida na modulação de comportamentos de ratas lactantes.

POS 05-09

Participação de receptores 5-HT_{1A} do núcleo arqueado (Arc) e do hipotálamo lateral (HL) no controle da ingestão de alimentos em ratos. Sérgio Murilo Steffens, Moacir Serralvo Faria, José Marino Neto, Marta Aparecida Paschoalini, CFS, CCB, UFSC, Brasil.

Dados da literatura mostram que receptores 5-HT_{1A} estão presentes em neurônios do Arc contendo NPY, AgRP, POMC e CART e em neurônios do HL contendo MHC e orexina. Este estudo teve como objetivo investigar a possível participação de receptores 5-HT_{1A} do Arc e do HL no controle do consumo de alimento em

ratos. Foram utilizados ratos *Wistar* fêmeas, peso corporal entre 200 e 300g, habituadas por uma semana a ingerir uma mistura de 100g ração granulada, 120 ml de água e 10g de sacarose durante 1 h (das 13:00 h às 14:00 h), diariamente. Cânulas-guia foram implantadas 2 mm acima do Arc (N=6), do HL (N=9), do hipotálamo medial (N=5) e do hipotálamo dorsal (N=7) para permitir a injeção local de ácido ascórbico 5% (200 nl) e 6 nmol de 8-OH-DPAT (agonista seletivo 5-HT_{1A}). Após a injeção, os animais foram transferidos para uma caixa de observação para avaliação, por 1 h (no mesmo horário da habituação alimentar), do consumo de água e de alimento (a mesma mistura oferecida ao longo de uma semana), bem como de comportamentos não ingestivos (locomoção, exploração não locomotora, exploração vertical, auto-limpeza e imobilidade). Os resultados mostraram que a injeção 8-OH-DPAT no Arc e no HL reduziu o consumo de alimento, quando comparado ao grupo controle e aos demais núcleos hipotalâmicos. Esta resposta hipofágica foi acompanhada por uma redução na latência para iniciar a ingestão de alimento no grupo tratado com 8-OH-DPAT no Arc. A resposta dipsogênica e os comportamentos não ingestivos mantiveram-se inalterados após injeção de 8-OH-DPAT em todos os sítios hipotalâmicos investigados. Esses dados sugerem que a hipofagia induzida pelo 8-OH-DPAT, no Arc, poderia ser mediada pelo aumento na liberação de peptídeos anorexigênicos (α-MSH e CART) ou pela redução na liberação dos peptídeos orexigênicos (NPY e AgRP) No HL, a resposta hipofágica induzida pelo 8-OH-DPAT poderia ser mediada pela redução na liberação de MHC e orexina. **Apoio financeiro**: CAPES e CNPq.

POS 05-10

Alteraciones en la morfología del potencial de acción del nodo seno auricular de conejo causadas por la diabetes *mellitas.* Ponce B.D[1], Albarado I.A[1,] Navarro-Polanco RA[2], Sánchez-Chapula JA[2*], Hernández G.V[4], Berra-RomaniR[3], Torres-Jácome J[1].1Instituto de Fisiología,[3]Facultad de Medicina BUAP, [2]CUIB Universidad de Colima; [4]Universidad Autónoma de Cd. Juárez

Los pacientes diabéticos presentan anormalidades en la actividad eléctrica del corazón. Hasta el momento solo se han estudiado, los efectos de la diabetes mellitus experimental (DME), sobre las propiedades electrofisiológicas de las células ventriculares. Observándose en ellas, aumento en la duración del potencial de acción (PA), debido a la disminución de algunas corrientes de potasio. Produciendo un aumento de la probabilidad de padecer arritmias cardiacas. En la actualidad, no se ha estudiado el efecto de la DME sobre el PA del nodo seno auricular (NSA), el cual es el sitio de origen de la actividad eléctrica espontánea del corazón. En este trabajo, registramos el PA utilizando microelectrodos convencionales, en tejido nodal de conejos controles y diabéticos. Observamos, que en conejos con DME, existen alteraciones en la morfología del PA. En el NSA, la DME produce una disminución en la frecuencia de disparo del PA del 20%, reduce la pendiente de la fase 4 un 38.57%, aumenta la amplitud del PA por 11.98 %, incrementa la duración del PA por un 21% y aumenta por 20.58 %, en el periodo refractario absoluto. No encontramos diferencia estadística, en la máxima velocidad de despolarización de PA entre células controles y diabéticas. La constante de tiempo de reactivación del PA no se altera por la DME. Las alteraciones son independientes de la frecuencia de disparo y son debidas a la falta de insulina. En adición, observamos una mayor variabilidad y dispersión de los intervalos de generación de los PAs de las células diabéticas. Estos resultados demuestran que la diabetes mellitus causa alteraciones en la actividad eléctrica del NSA que conllevan a un aumento de la probabilidad de padecer arritmias cardiacas.

POS 05-11

Expression Of Oxytocin (OT)-Producing Neurons In The Hypothalamus And OT Response To Restraint Stress In Adult Female Rats Submitted To Neonatal Handling. Marcia Azevedo, Anelise Todeschin, Silvana Jacobs, Gabriela Severino, Elisa Winkelmann-Duarte, Ana Cecconello, Mariane Aimi, Celso Franci, Aldo Lucion. Dept. Physiology, UFRGS, Porto Alegre, RS, Dept. Physiology, USP, Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Since neonatal handling induces long-lasting neuroendocrine and behavioral effects, we raise the hypothesis that early life stress leads to stable alterations in the central nervous system that could explain those changes. The study aimed to analyze the expression of oxytocinergic neurons in hypothalamus and the effects of restraint stress on plasma OT in female rats that were manipulated in the neonatal period. Wistar rat pups were daily handled (H) for 1 min during the first 10 postnatal days, or left undisturbed (NH). On the 90th day, the brains were removed. The paraventricular (PVN) and supraoptic (SON) nucleus of hypothalamus were processed for OT immunohystochemistry. OT-positive cells were counted bilaterally. H females had less parvocellular OT immunoreactive neurons in PVN compared with NH, but the number of OT-magnocellular neurons in PVN and SON were not different. Another set of females, also in diestrus, were submitted to restraint stress for 60 minutes, and blood samples were collected before, 10, 30 and 60 minutes after restraint. Plasma was assayed for OT. A delay in the OT response to stress was shown; the OT surge in NH females was detected 10 min after stress, while in H females it was 30 min. The habituation-dishabituation paradigm was used to test short-term social memory. The females received four 2 min exposures to the same juvenile rat followed by a single exposure to a different juvenile. Time spent in investigating the intruder was recorded. Handled females showed no impairments in the social memory, however they spent less time investigating the juveniles. Neonatal handling induces a reduction in the number of OT-positive parvocellular neurons in the PVN that could be related to behavioral

and neuroendocrine long-lasting effects. Financial support: CAPES, FAPESP, CNPQ.

POS 05-12

Effect of estrogen (Tamoxifen) and progesterone (RU 486) antagonists on nitric oxide synthase (NOS) expression and activity within preoptic area (MPOA) from rats on proestrus. Fernanda B. Lima; Fábio H. Ota; Celso R. Franci; Depto. Fisiologia - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP, São Paulo.

The neurons that produce gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) are mainly in the medial preoptic area (MPOA) and constitute a common final pathway to the control of the luteinizing hormone (LH) surge on proestrus. The control of GnRH secretion depends on the action of ovarian steroids and several neurotransmitters, including nitric oxide (NO). It has been described that NO in MPOA stimulates LH surge on proestrus. The aim of this work was to study the action of estrogen (tamoxifen) and progesterone (RU-486) antagonists on expression and activity of NO synthase (NOS), the enzyme that produces NO, within MPOA of female rats on proestrus. For this purpose, one group of cycling females received s.c. injections of tamoxifen (0.3mg/0.2mL/animal) on diestrous and metestrous morning (9h) and was killed on proestrus (17h). Another group of cycling rats received s.c. injections of RU-486 (2mg/0.2mL/animal) on diestrus, metestrus (8h and 17h) and proestrus (8h) and was killed on proestrous afternoon (17h). Tamoxifen treatment significantly decreased both, expression (control: 39.2 ± 7; tamoxifen: 24.6 ± 10 arbitrary units) and activity (control: 8.71 ± 1; tamoxifen: 3.4 ± 0.7 pmoles/15 min/mg prot) of NOS within MPOA on proestrus. RU-486 did not affect NOS expression (control: 32.9 ± 8 and RU-486: 35.3 ± 9 arbitrary units) or activity (control: 10.9 ± 7; RU-486: 11.2 ± 5 pmoles/15 min/mg prot) in MPOA. Therefore, since just estrogen antagonist decreased NOS activity and expression in MPOA, present data suggest that NO action can be directly stimulated by estrogen but not by progesterone within MPOA on proestrous afternoon, modulating the LH preovulatory surge. **Financial Support**: CNPq, Capes and Fapesp, Brazil.

POS 05-13

Locus coeruleus involvement in cold-stress induced morphological alterations in the rat ovary. Marcelo Picinin Bernuci, Cleyde V. V. Helena, Raphael E. Szawka, Hernan E. Lara, Janete A. Anselmo Franci., Depto de Fisiologia, Fac Medicina, Univ de Sao Paulo, Brazil.

Cold stress alters sympathetic tone in the ovarian innervation that is related to ovarian pathologies. Since the noradrenergic nucleus locus coeruleus (LC) has been implicated in many stress responses, this study was designed to assess the involvement of the LC in cold stress-induced ovarian morphology. Adult female rats received electrolytic lesions in the LC, sham surgery, or no surgical treatment. At 7d later, rats were intermittently subjected to a cold ambient temperature (4°C, 3h/day, for 8 wks; stress groups) or maintained in a neutral ambient temperature (24º C; control groups). Following the last stress session, rats were killed on the afternoon of estrus. In the right ovary, morphological alterations were evaluated histologically, while in the left ovary, concentrations of norepinephrine (NE) and its metabolite, 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG) were determined. Stress reduced the number of pre-antral and peri-ovulatory antral follicles, increased the number of follicles with enlarged theca cell layer and induced the formation of follicular cysts. All these stress-induced effects were prevented by the LC lesion. Cold stress and LC lesion on their own did not alter either NE or MHPG levels in the ovary. However, LC lesion in cold-stressed rats increased the levels of NE and decreased the levels of MHPG, reflecting decreased noradrenergic turnover (MHPG/NE). These results are consistent with the hypothesis that cold stress-induced morphological alterations in the ovary are mediated by altered ovarian sympathetic tone, which in turn depends upon on the integrity of LC noradrenergic neurons. In current experiments, we are attempting to determine the descending pathways from the LC that mediate these effects on the ovary.

POS 05-14

Melatonin effects on alcohol hangover. Sex differences. Verónica Bruno, Juan Schmukler, Lucía Comastri, María E. Pallarés, Pablo A. Scacchi, Rodolfo Cutrera. Laboratorio de Neurobiología y Ritmos, Depto. de Fisiología y Biofísica, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Alcohol (OH) exerts part of its harmful effects through the production of free radicals. These effects are present both at the moment of acute consumption and hours later, when blood alcohol concentration is undetectable (hangover). The pineal secretion, melatonin (MT) has proved to be an important antioxidant and neuroprotective agent. The objective of this article was to assess the deleterious effects of alcohol on the CNS (specifically, neuromuscular coordination) during hangover, using the tight rope test. The possible protective role of MT on this model was also evaluated. Mice, Swiss, of both sexes, received pre-treatment with either MT (10 mg/kg i.p.) or saline; and 15 minutes later they were injected with ethanol (3.8 g/kg from a 15 % m/v solution) (n =15 per group). Six hours later (alcoholemia = 0 mg/dl), mice were tested in the tight rope test and their performance was punctuated. Data were analyzed using the Mann Whitney U Test. Female mice performance after OH treatment was poor compared to controls (p=0,001). Moreover, MT treated animals had an even worse performance than those treated only with ethanol (p= 0,016). Males injected with OH alone showed a similar performance to females (p= 0,009). In this case MT counteracted the deficit (p= 0,001). Comparison between sexes showed the following: while MT improved the test performance in males, it deteriorated it in fe-

males (p= 0,001). Our results suggest that MT has a differential effect: it produces an improvement in males treated with OH and reinforces the deleterious effects observed in hangover on neuromuscular coordination in female mice.

POS 05-15

Effect of gonadal hormones on dendritic spine density in the posterodorsal medial amygdala of female rats. Juliana de Castilhos, Alberto Rasia-Filho, Matilde Achaval. Lab. Histofisiologia Comparada, UFRGS, Brasil. Lab. de Fisiologia, FFFCMPA,Brasil.

The aim of this study was to determine the action of sex steroids on the dendritic spine density in the posterodorsal medial amygdala (MePD) of ovariectomized rats and to investigate if estradiol-dependent effects would be mediated by NMDA receptors. The animals were adult female Wistar rats (n=6 per experimental group) that were ovariectomized and injected with oil vehicle ("O"; 0.1ml s.c.); estradiol benzoate ("EB"; 10μg/0.1ml s.c.); or EB and progesterone ("EB+P"; 10μg/0.1ml and 500μg/0.1ml s.c.). Additionally, two other groups were studied: EB and saline ("EB+S"; 10μg/0.1ml s.c. and 0.2 ml i.p., respectively) and EB and LY235959, a NMDA receptor antagonist ("EB+LY"; 10μg/0.1ml s.c. and 3mg/Kg i.p). The single-section Golgi method was employed. The spines presented along the first 40 μm of dendritic length were drawn using a camera lucida coupled to an optic microscope (1000 X). Each animal had eight different dendrites selected, one per neuron, performing a total of 48 dendrites studied in each group. Data obtained were submitted to an one-way ANOVA followed by the Bonferroni *post hoc* test (groups 1, 2 and 3) or to an unpaired two-tailed Student's *t* test (groups 4 and 5). In both cases, $\alpha = 5\%$. Results indicated that dendritic spine densities showed a highly significant difference among the first 3 studied groups [$F(2,143) = 104.24$; $p < 0.001$]. The EB and EB+P groups (mean ± s.e.m. = 1.91 ± 0.04 and 2.67 ± 0.05, respectively) showed a higher spine density when compared to the control group (1.60 ± 0.05; $p < 0.001$). In the EB+S and the EB+LY groups, the dendritic spine density was lower in the group that received the glutamatergic antagonist (2.02 ± 0.04) compared to the EB+S group (2.15 ± 0.04; $p = 0.04$). Dendritic spine density in the MePD can be affected by gonadal hormones in females. In this regard, progesterone potentiates the increase in the number of spines mediated by estradiol. And, estradiol appears to promote this effect, at least in part, by NMDA receptors.

POS 05-16

Effect of clonazepam on the reactive oxygen species production in the frontal cortex, hippocampus and striatum of streptozotocin diabetic rats. Carina D Venturini[1,3], Rosane Gomez[2,3], Helena MT Barros[1], Claudia R Rhoden[1]. [1]Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brasil, Disciplina de Farmacologia. [2]Yale University, New Haven, CT, USA.[3] IPA Centro Universitário Metodista, Porto Alegre, Brasil.

Chronic hyperglycemia may induce neural damage related to glycation reactions and production of reactive oxygen species (ROS) in diabetic patients and could be related with a higher risk of depression in such patients. Pharmacologic prevention of neuronal damage might be a therapeutic alternative to decrease cognitive deficits or depression in these individuals. Therefore, our objective was to study the effect of clonazepam, a $GABA_A$ agonist, on ROS production in the frontal cortex, hippocampus and striatum of diabetic and non-diabetic rats. Wistar male rats, were made diabetic with a single dose of streptozotocin (STZ: 65 mg/kg, i.p.), and after 2 weeks they were divided into a treatment group (CNZ: 0.25 mg/kg, i.p., n = 8) or saline group (n = 8). Both groups had control non-diabetic rats (CTR). All rats received 3 doses of clonazepam or saline at 24, 5 and 1 hour before euthanasia. Brain areas were separated and frozen for post-mortem analysis of lipid peroxidation evaluated by the thiobarbituric reactive substances method (TBARS). Results showed that the hippocampus was the only brain areas affected by chronic hyperglycemia. Interestingly, clonazepam showed antioxidant effects in the frontal cortex area and showed pro-oxidant effects in the hippocampal and striatal areas ($F(1,19) = 22.261$; $p<0.001$). Diabetes decreased the clonazepam effect around 36% in all brain areas ($F(1,57)=4.84$; $p=0.032$). Clonazepam presents a selective antioxidant effect, according with the brain area, independently of hyperglycemia. The neuroprotective effects of clonazepam or other GABAergic drugs need further study to help to discover new drugs that could decrease neuronal damage from diabetes or other neurodegenerative diseases.

POS 05-17

Inmunoreactividad para MCH en tanicitos de núcleos del rafe y zona subventricular del gato. Pablo Torterolo[1], Patricia Lagos[1], Sharon Sampogna[2] and Michael H. Chase [2,3] 1. Depto. Fisiología, Facultad de Medicina, Montevideo-Uruguay. 2. WebSciences International, Los Angeles (CA), USA 3. UCLA School of Medicine, Los Angeles (CA),USA

Las neuronas que contienen la hormona concentradora de melanina (MCH) se localizan en el hipotálamo postero-lateral y la zona incerta, y proyectan de forma difusa hacia todo el sistema nervioso central, estando involucradas en procesos fisiológicos críticos como la homeostasis energética y el sueño. En el presente trabajo, utilizando la técnica de inmunohistoquímica se estudió la presencia y distribución de células y procesos MCHérgicos en el tronco encefálico del gato. Se detectaron axones con inmunoreactividad (IR)+ para MCH. Además, IR+ para la MCH se detectó en células ependimarias que bordean el cuarto ventrículo y acueducto (cúbicas y otras con largos procesos basales), células en las zonas periventriculares, con largos y finos procesos

en contacto con las capas de células ependimarias, y células en el rafe dorsal y medial, de ubicación central, a diferencia de la descrita clasicamente para las neuronas serotoninérgicas. Las células MCHérgicas no fueron marcadas con NEU-N (marcador neuronal) mientras que hubo una IR+ leve para GFAP (marcador de astrocitos). Basados en descripciones morfológicas realizadas con métodos histológicos clásicos, es muy probable que estas células MCHérgicas sean tanicitos. El intenso patrón de IR+ para MCH presente en los tanicitos, células especializadas en el transporte de sustancias desde el líquido cefaloraquídeo (LCR), sugeriría que la MCH (probablemente liberada desde el tercer ventrículo), pudiera ser absorbida desde el LCR a nivel del cuarto ventrículo. Así, surge nuestra hipótesis de que el sistema MCHérgico, a través de una vía neuroendócrina aún no descrita, modularía a las neuronas serotoninérgicas del rafe. Este tipo de modulación tendría un rol importante en el control de procesos fisiológicos como el sueño REM.

POS 05-18

Manganese increases LHRH release through NO and cGMP. Prestifilippo JP, Fernádez-Solari J, Mohn C, De Laurentiis A, McCann SM, Dees WL; Rettori V. [1]Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CONICET-UBA), Buenos Aires, Argentina.

Manganese (Mn) is an essential metal but in high doses has a toxic action in the brain resulting in a neurological disorder similar to Parkinson's disease. Mn increased plasma levels of luteinizing hormone (LH) when injected into the third cerebral ventricle in prepuberal rats. On the other hand, nitric oxide (NO) plays a crucial role on reproduction, principally by the activation of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) release from the hypothalamus and the subsequent release of LH by gonadotropes from the pituitary gland. Therefore, the aim of the present work was: to determine the effect of Mn on LHRH release and NO production in the medial basal hypothalamus (MBH) of adult Sprague Dawley male rats (250g). After decapitation and removal of the brain, the MBH was dissected and incubated in a static incubation system in Krebs-Ringer buffer. Groups (n:6-8 MBH) were pre-incubated individually for 15 min and then incubated for another 30 min with different drugs:1) Control (Krebs); 2) Mn (500µM); 3) L-NAME (10^{-3}M), an inhibitor of NOS activity; 4) Hemoglobin (Hb 40ug/ml), a scavenger of NO; 5) Methylene Blue (MB, 10.10^{-3}M), an inhibitor of guanylyl cyclases; 6) Mn+L-NAME; 7) Mn+Hemoglobin; 8)Mn+Methylene Blue. cGMP in the tissue and LHRH in the media were measured by RIA and NOS activity by the technique of ^{14}C-arginine. All data are expressed as means+SEM. Comparisons between groups were performed by using ANOVA followed by the Newman-Keuls test. Differences with $p < 0.05$ were considered significant. Mn increased LHRH release ($p<0.001$), NOS activity ($p<0.01$) and cGMP content ($p<0.01$). L-NAME blocked the stimulatory effect of Mn on LHRH release ($p<0.01$) and the increase of cGMP ($p<0.05$). Hb completely blocked the stimulatory effect of Mn on LHRH release ($p<0.001$). MB blocked the Mn-stimulated LHRH release ($p<0.01$) and the increase on cGMP content ($p<0.01$). These results indicate that NO and cGMP mediate the Mn-stimulated.

POS 05-19

Effect of L-NAME on vasopressin synthesis and secretion during polymicrobial sepsis. Gabriela Ravanelli de Oliveira-Pelegrin[1], Letícia Antunes Athayde[1], Song Yao[2], David Murphy[2], Maria José Alves da Rocha[3], [1]Biociências Aplicadas à Farmácia, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, [2]Henry Wellcome Laboratories, University of Bristol, England. [3]Depto Morfologia, Estomatologia e Fisiologia, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil.

Polymicrobial sepsis induced by cecal ligation and puncture (CLP) causes a set of physiological alterations that include hormonal changes. Nitric oxide (NO) is known to modulate the release of vasopressin (AVP). Our aim was to study the central effect of L-NAME injection on AVP plasma concentration and on hypothalamic AVP mRNA content during polymicrobial sepsis induced by CLP. Male Wistar rats (250-280g) received an i.c.v. injection of L-NAME (250µg) or saline (vehicle) and 30 minutes later they were submitted to CLP (10 punctures-16G) or to a sham operation. Animals were decapitated at 0, 4, 6, 20 or 24h after surgery and blood was collected for hematocrit, serum sodium and AVP plasma measurements. The brains were removed and the paraventricular (PVN) and supraoptic (SON) nuclei were punched out for AVP mRNA determination by real-time PCR. CLP increased hematocrit and plasma AVP at 6h ($P<0.05$), but at no time point did it cause changes in serum sodium levels. An increase in AVP mRNA levels was observed in PVN 4h after CLP, but not in SON. L-NAME pretreatment increased survival (80% vs. 66.6%, for saline controls) and attenuated the hematocrit and plasma AVP increase observed after 6h of CLP ($P<0.05$). L-NAME pretreatment also caused an increase in the AVP mRNA level in SON at 4, 6 and 24h after CLP. In contrast, in the PVN the AVP mRNA increase was blocked at 4h after CLP. These results demonstrate that NO may play a role in AVP synthesis and secretion during CLP-induced sepsis in rats. *Financial Support:* FAPESP.

POS 05-20

Crecimiento ovárico *in vitro* en la langosta de agua dulce *Cherax quadricarinatus*, por efecto de neuroreguladores. Alejandra V. Cahansky, Daniel A. Medesani y Enrique M. Rodríguez, DBBE, FCEyN, Universidad de Buenos Aires. Ciudad Universitaria, Pab. II. C1428EHA Buenos Aires, Argentina.

Previamente al experimento *in vitro*, se mantuvieron hembras adultas de *C. quadricarinatus* en condiciones

constantes de temperatura (25°C ± 1°C), fotoperíodo (14:10 L:O) y alimentación. Se disecó luego el ovario, se lo corto en pequeñas piezas (10 mm de largo) y se colocó cada pieza en un tubo estéril con medio de cultivo M199 (osmolaridad: 428mOsm, pH: 7,4), suplementado con antibióticos, suero fetal bovino al 10%, antiproteasas y EDTA (1 mM). Cada pieza ovárica se incubó con algún tejido neuroendocrino, o bien con tejido control (músculo de la quela). Los viales recibieron 3 uCi de leucina ^{3}H, midiéndose la incorporación del aminoácido a las proteínas ováricas sintetizadas *de novo*, como método directo de cuantificación del crecimiento ovárico. La incubación fue de 24 hs en cámara de CO_2, a 28°C, en condiciones de oscuridad constante y sin agitación, luego de lo cual cada pieza ovárica fue secada, pesada, homogeneizada y centrifugada y filtrada, calculándose finalmente las CPM por mg de ovario. Los grupos experimentales fueron los siguientes (OV: ovario, M: músculo, GT: ganglio torácico, PO: pedúnculo ocular, NX: naloxone): 1) OV+ M; 2) OV+M+NX; 3) OV+GT; 4) OV+GT+NX; 5) OV+PO; 6) OV+PO+NX. La concentración utilizada del antagonista encefalinérgico naloxone fue de 0,125 mM, de acuerdo con trabajos previos. Los resultados obtenidos indicaron un crecimiento ovárico significativo ($p<0,05$ ANOVA de un factor) debido a la adición de GT (grupo 3 vs grupo grupo 1), esperable dado que éste es el órgano neuroendocrino responsable de la secreción de la hormona estimulante gonadal (GSH). La adición de naloxone, sin embargo, fue capaz de potenciar significativamente ($p<0,05$) el efecto estimulante del ganglio torácico (grupo 4 vs grupo 3), posiblemente al desarrestar la inhibición encefalinérgica que existiría sobre la secreción de GSH. Concomitantemente, se había observado *in vivo* un mayor crecimiento ovárico luego de la administración de naloxone en la dieta. La especie en estudio se produce en criaderos y posee un importante valor comercial.

POS 05-21

Malnutrition during lactation as a metabolic imprinting factor inducing the feeding pattern of offspring rats when adults. The role of hypothalamic NPY. [1]Helena Cruz, [2]Alexandre Marcelino; [1]Mario José dos Santos Pereira; [2] Frank Tenóro, F.; [1]Anibal Sanchez Moura, Departamento de Ciências Fisiológicas; [2] Departamento de Farmacologia e Psicofarmacologia; Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Av. 28 de Setembro, 20550-030 Rio de Janeiro, Brasil.

The aim of the present study was to determine the prospective effect of malnutrition during early postnatal life on the feeding pattern of rat offspring when adults (60 days old). In order to understand the neural mechanism we studied using western blotting and immunohistochemistry techniques, the content of the hypothalamic appetite regulator neuropeptide Y (NPY) in the arcuate nucleus. In comparison with rats normally fed during lactation, we observed that adult offspring from undernourished dams displayed a faster process of feeding reduction when a protein-free diet was offered (60 days). We observed that 3 days after the diet was changed the offspring malnourished during lactation displayed a food intake reduction around 41.4% vs. 14.2% of the control group. This high food intake reduction was associated to the NPY content reduction. The fast NPY reduction was observed in the malnourished animals at 10 days old and was around 55% lower in the arcuate nucleus 3 days after of protein-free diet (60 to 63 days). The data suggest that the differential NPY reduction found in the adult malnourished offspring was acquired during early life. The data also suggest that this reduction may be an important mechanism driven to elicit a sustained long-term and unique feeding pattern. Support: CNPq, CAPES, FAPERJ.

POS 05-22

Efeitos de intervenções no ambiente neonatal sobre a relação mãe-filhote e o comportamento dos ratos na idade adulta. Márcia Scherem de Azevedo[1], Fabiana Leopoldo de Sousa[1], Márcia Giovenardi[2], Silvana Jacobs[1], Aldo Bolten Lucion[1]. [1]Lab. Neuroendocrinologia do Comportamento, Depto. de Fisiologia, ICBS, UFRGS e [2]Lab. de Fisiologia, Depto. de Fisiologia, FFFCMPA, Porto Alegre, RS, Brasil.

Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes tipos de estimulação ambiental sobre o comportamento maternal, assim como o comportamento dos filhotes na idade adulta. Ratas prenhas Wistar foram divididas em 4 grupos: filhotes não estimulados (n=15), que permaneceram intactos; manipulados (n=15), que foram manipulados gentilmente; separados (n=15), que foram afastados da mãe; e estimulados tatilmente com pincel (n=15). Os procedimentos foram realizados durante 10 min e nos 10 primeiro dias de vida dos filhotes. Os parâmetros avaliados do comportamento maternal foram: amamentação com dorso arqueado e de lamber os filhotes no 1º, 5º e 10º dia pós-parto sempre por 30 min após os procedimentos experimentais. Quando adultos, os filhotes machos foram analisados no campo aberto. Os resultados foram expressos através de média (±EPM) e comparados por uma ANOVA seguida de Newman Keuls ($p\leq0,05$). A duração(s) de lamber os filhotes foi maior no grupo manipulado (141±13,22) em relação ao controle (90±15,2), ao separado (99,5±16,7) e ao estimulado com pincel (80,7±11,4). Os machos adultos apresentaram uma diminuição significativa na latência(s) de entrada no centro do campo aberto dos grupos manipulado (63,5±13,4) e separado (67,4±18,2) em relação ao grupo controle (142,8±28,2) e o grupo estimulado com pincel (109,7±19,87). O tempo(s) de permanência no centro foi significativamente maior no grupo manipulado (21,3±5,6) em relação ao controle (8,9±2,4), ao separado (22,2±5,4) e ao estimulado com pincel (8,3±1,6). Sendo Assim, concluímos que apenas o procedimento de manipulação dos filhotes foi capaz de aumentar significativamente o comportamento maternal das mães e que os filhotes machos na idade adulta que foram manipulados e separados no período neonatal

apresentam redução da inibição comportamental.

POS 05-23

O efeito de diferentes programas de exercício físico regular forçado sobre os níveis de BDNF. Fernanda Cechetti, Patrícia Nardin, Carlos Alberto Gonçalvez, Carlos Alexandre Netto, Ionara R. Siqueira, Depto de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

Estudos recentes sugerem que a prática do exercício físico aumenta a expressão gênica de neurotrofinas, especialmente do fator neurotrófico derivado do encéfalo (BDNF). Recentemente, nosso laboratório demonstrou que diferentes programas de exercício físico regular forçado em esteira ergométrica - diário durante duas semanas ou três vezes/semana durante 3 meses, ambos com duração de 20 minutos - reduziram o dano celular em fatias hipocampais de ratos expostas à isquemia *in vitro* (POG). O objetivo deste trabalho foi quantificar os níveis de BDNF em diferentes estruturas cerebrais: hipocampo, estriado, córtex frontal e cerebelo, de animais submetidos a diferentes programas de exercício. Ratos Wistar machos foram treinados em esteira diariamente durante 2 semanas (n=8) ou 3 meses com freqüência de uma (EXE1, n=8) ou três vezes (EXE3, n=8) semanais ou mantidos sedentários (SED, n=8). Os animais foram decapitados, as estruturas cerebrais foram dissecadas e congeladas em nitrogênio líquido. Os níveis de BDNF foram determinados nos homogeneizados das estruturas, utilizando o ensaio imunoenzimático ELISA (PROMEGA, USA) seguindo o protocolo recomendado. Corroborando a literatura, o BDNF está presente em altas concentrações no hipocampo. O exercício físico não alterou os níveis de BDNF nas estruturas cerebrais estudadas, o que pode estar relacionado ao modelo de exercício (forçado). Portanto, a neuroproteção induzida pelo exercício físico observada parece não estar relacionada ao aumento dos níveis de BDNF.

POS 05-24

M1I *MRAP* gene mutation in a Brazilian patient with Familial Glucocorticoid Deficiency. Cristhianna V. A. Collares, Suzana N. França, Margaret de Castro, José Antunes-Rodrigues, Lucila L. K. Elias, Department of Physiology of School of Medicine of Ribeirão Preto, SP, Brazil.

Familial glucocorticoid deficiency (FGD) is a rare autossomal recessive disorder, which is characterized by severe glucocorticoid deficiency, with a failure of adrenal responsiveness to ACTH without mineralocorticoid deficiency. FGD has been segregated with ACTH receptor gene (*MC2R*) mutation in 25% of cases. More recently, a gene encoding a small single transmembrane domain protein called melanocortin 2 receptor accessory protein (*MRAP*) was described to be an essential cofactor for *MC2R* expression. *MRAP* gene mutation was also described in patients with FGD. In the present study we describe a Brazilian patient with FGD, in whom the molecular study of the *MC2R* and *MRAP* gene was performed. For this purpose, DNA was extracted from peripheral blood sample from the index case and her parents. The single coding region of the *MC2R* gene and the exons 3, 4, 5, and 6 of the *MRAP* gene were amplified by PCR, followed by automatic sequencing. The index case was a female patient, born from non consanguineous parents, with convulsion, frequent infections, hypoglycemia and skin pigmentation, since 1 year old, and height above the 97th percentile. The ACTH plasma levels were high in basal conditions. The cortisol plasma levels were low with no response to ACTH stimulation. Plasma aldosterone levels were normal. There was no change in the DNA sequencing of the *MC2R*. The *MRAP* sequencing revealed a homozygous missense mutation (3G>A) in exon 3, that results in a substitution of methionine for isoleucine (M1I) in the initiation codon of this gene. The DNA of her parents showed a heterozygous M1I mutation in the *MRAP* gene sequencing. In conclusion, we confirm that *MRAP* gene mutation can cause FGD. This is the first report of *MRAP* gene mutation in Brazilian patient.

POS 05-25

Leptin effect on its receptors in the hypothalamus-pituitary-ovary axis. María Paula Di Yorio, María Guillermina Bilbao, Alicia G. Faletti. Dto. de Química Biológica, FCEyN-UBA, CEFYBO-CONICET.

Leptin, the obese gene product, is synthesized and secreted by adypocytes and regulates appetite and energy expenditure through interaction with hypothalamic leptin receptors. Both the short and long isoforms of the leptin receptor are expressed not only in the hypothalamus but also in ovarian cells in both, human and rodents, suggesting that leptin may act directly on the ovary and modulate its function. In previous studies we demonstrated that high levels of leptin inhibited, while low levels induced the ovulatory process. The aim of this study was to investigate the effect of leptin on the expression of its receptors in the hypothalamic-pituitary-ovarian axis, by performing both *in vivo* studies using prepuberal rats stimulated with gonadotrophin and *in vitro* studies, using hypothalamic, pituitary and ovarian explant cultures. By western blotting assays, the expression of both leptin receptor isoforms (OB-Rl and OB-Rs) was found in hypothalamic and ovarian tissues. Densitometric analysis revealed that the administration of hCG induced an increase in OB-Rl protein expression, while the serum concentration of leptin diminished. In vitro studies showed that the expression of leptin receptors in ovarian tissue was augmented by the presence of high levels of leptin. Meanwhile their expression in hypothalamic tissue was biphasic, since it was reduced at low doses and increased at high doses of leptin, in comparison with controls. Unlike those tissues, in the anterior pituitary, OB-Rs protein displayed higher expression than OB-Rl, which was barely detected. Anyway, the expression of these receptors was increased by the presence of high doses of leptin, as

occurred in ovarian tissue. These results suggest that leptin is able to modulate the expression of its own receptors in the hypothalamic-pituitary-ovarian axis in a differential way. Moreover, the positive or negative effect that leptin exert on the ovulatory process may be dependent of this regulation.

POS 05-26

Expressão da proteína cinase B (Akt) em hipotálamo de ratos tratados com Desidroepiandrosterona Daiane Janner, Maria Helena Jacob, Suzie de Andrade, Maria Flávia Ribeiro. Departamento de Fisiologia,Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre Brasil.

Desidroepiandrosterona (DHEA) é um neuroestreóide que está relacionado com a neuroproteção, em animais submetidos à isquemia, estresse oxidativo e hiperglicemia. Todavia, os mecanismos moleculares que fundamentam tais efeitos permanecem obscuros. Neste estudo, ratos Wistar machos adultos foram tratados intraperitonealmente com 1, 10 ou 50mg/kg de DHEA e foram decapitados após 6 ou 24 horas das injeções. O grupos controle receberam igual volume de veículo (beta-ciclodextrina 20%). Após decapitação, os encéfalos foram retirados e dissecado o hipotálamo. Após homogeneização, centrifugação e quantificação de proteínas (Bradford) as amostras foram preparados para análise por Western Blotting. As proteínas separadas por eletroforese em gel de poliacrilamida10% (SDS-PAGE) foram transferidas para membrana de nitrocelulose e incubadas com anticorpos anti-Akt basal e anti-fosfo-Akt-S473 (Santa Cruz). A imunorreatividade foi revelada por quimiluminescência (ECL) e a quantificação em analisador de imagem (Image Master VDS). Para análise estatística dos resultados foi realizada ANOVA de uma via ($p<0,05$). Os resultados indicam que não houve alteração significativa na expressão da proteína Akt basal e na sua fosforilação, tanto no tratamento de 6 horas como no de 24 horas em nenhuma das diferentes doses testadas. Além disso, a relação Akt fosforilada/Akt basal não apresentou diferença entre os grupos e doses estudados. É provável que não tenha sido possível detectar diferenças significativas estatatisticamente devido ao pequeno número de animais usados neste estudo. Além disso, supomos que animais normais não necessitem da ativação de uma via neuroprotetora, o que não ocorre no envelhecimento. Estudos posteriores utilizando ratos velhos devem revelar essas diferenças.

POS 05-27

Efecto del pretratamiento con esteroides sexuales en las células de adenohipófisis de rata macho sobre la secreción de FSH y LH en presencia de timulina y GnRH. Naham Ortega, Claudia C. Ortega, Patricia Rosas, Lab. de Neuroinmuno-endocrinología, UIBR, FES-Zaragoza, UNAM, México DF, México.

En células de adenohipófisis de rata hembra o macho, la timulina (TIM) incrementa la liberación de FSH y LH, efecto que se potencia con GnRH. Previamente mostramos que en las células de adenohipófisis de rata hembra, la TIM modifica la liberación de las gonadotropinas dependiendo del día del ciclo estral. Con el fin de analizar si los esteroides sexuales son los que modulan estos efectos, se decidió analizar la participación de la TIM en la liberación de FSH y LH en células adenohipofisarias de rata macho pretratadas o no con esteroides en las concentraciones presentes en la rata hembra. Se utilizaron células de adenohipófisis de ratas macho preincubadas por 24 h con P_4 (50 ng/ml), T (100 pg/ml) o E_2 (100 pg/ml). Posteriormente se realizó un cambio de medio y se incubaron por 3 h con TIM (100 ng/ml), GnRH (10^{-10}M), GnRH+TIM y sin tratamiento. En el medio se evaluó FSH y LH (ng/ml) por RIA. Los datos se expresan como media±e.e.m. de 4 experimentos por triplicado y $p<0.05$. Los resultados mostraron que la GnRH estimuló la liberación basal de ambas gonadotropinas (FSH:23±1 vs 12±1, LH:123±9 vs 80±6). La adición de TIM incrementó la concentración basal de LH (132±13 vs 80±6) a valores similares a los observados con GnRH. El pretratamiento con esteroides sexuales+TIM no modificó de manera significativa la concentración basal ni estimulada de FSH. Sin embargo las células pretratadas con P_4 mostraron un incremento en la liberación basal de LH (164±15 vs 123±5), mismo que se inhibió por la adición de TIM (121±16 vs 164±15). En las células pretratadas con E_2 se observó un incremento en la liberación de LH en respuesta a la adición de GnRH+TIM (139±9 vs 175±15). Se puede concluir que los esteroides sexuales modulan los efectos de la TIM sobre los gonadotropos y dependen de la presencia de GnRH. Apoyado por DGAPA-PAPIIT clave IN228005

POS 05-28

Food intake reduction induced by cholecystokinin is associated with activation of brainstem areas in fasted rats. Ernane T. Uchoa, Henrique Augusto C. Sabino, Rodrigo C. Rorato, Margaret de Castro, Jose Antunes-Rodrigues, Lucila Leico K. Elias. Departments of Physiology and Internal Medicine, School of Medicine of Ribeirao Preto - USP, Brazil.

Cholecystotokinin (CCK) is a meal-related signal, which plays physiological functions, such as stimulation of pancreatic secretion, gallbladder contraction, intestinal motility and inhibition of gastric emptying. It has been also showed that CCK is involved in the satiety process, reducing meal size. The participation of brainstem structures in the satiety has been studied. In the present study, we evaluated the effect of CCK on food intake and Fos expression in the nucleus tractus solitarius (NTS) and area postrema (AP) in fasted rats. Male Wistar rats (200-250g), fasted for 16 hours, injected with two doses of CCK (3.5 or 10.0 μg/Kg ip) or saline (NaCl 0.9% ip) were refed soon after the injections for food intake determination. Another set of fasted rats was subjected to the CCK or saline injections, kept without access to food and was transcardiacally perfused after 2 hours, for the immunohistochemical localization of Fos in the brainstem. There was a decrease of

food intake ($p<0.01$) after CCK injection, compared to saline group (4.0 ± 0,2g/100g, n=5)), with no difference between the doses of 3.5 μg/Kg (2.9 ± 0.17g/100g, n=10) or 10 μg/Kg (2.7 ± 0.26g/100g, n=10). Both doses of CCK induced Fos expression in AP and NTS, when compared to saline injection, in which Fos expression was not observed. In conclusion, these data demonstrated that the decrease of food intake induced by CCK is associated with an activation of AP and NTS neurons.

POS 05-29

Maternal aggression in high and low licking females. Natalia Uriarte, Ximena F. Rosa, Aldo B. Lucion. Lab. Neuroendocrinologia do Comportamento. Depto. de Fisiologia, ICBS. UFRGS. Porto Alegre, Brasil

In addition to maternal care, lactating rats show an increase in aggressive behavior toward intruders. It has been proposed that the biological advantage of this increased aggression may be to protect the litter from potentially hostile conspecifics. It has been shown that dams show natural individual differences in maternal behaviors such as pup licking. These differences are stable across multiple litters and it is possible to classify them in high licking (HL) and low licking (LL) females. HL females are significantly less fearful under conditions of novelty, but the maternal aggressive behavior of LL and HL mothers is not characterized. Thus, the objective of this study was to determine if the LL and HL mothers differ in the levels of maternal aggression displayed toward intruders. **Methods:** The maternal behavior of 40 dams was recorded during the first 8 postpartum days. Lactating rats were classified as low (LL) or high (HL) licking based on their licking frequency of the pups. On a following lactation the maternal aggression test (10 min) was performed on day 6 postpartum. **Results and Discussion:** HL females (n=10) displayed significantly higher levels of maternal aggression compared with LL females (n=7) [attacks (LL: 1.0 ± 0.4 vs. HL: 6.1 ± 1.7*); bites (LL: 1.0 ± 0.4 vs. HL: 6.1 ± 1.7*); lateral threats (6.4 ± 2.2 vs. 10.4 ± 1.8*) *$p<0.05$: Student t-test]. These results showed that natural variations in maternal licking behavior are correlated with an increase in maternal aggression, suggesting that the two groups of mothers have different reproductive strategies. **Financial support:** CNPq.

POS 05-30

Integracion neuroendocrina periférica. Sosa Zulema, Adriana Vega O, Rastrilla Ana. Lab. de Biol. de la Reprod. (LABIR).Universidad Nacional de San Luis. zsosa @unsl.edu.ar.

Dada la importancia de la regulación neural en la fisiología del ovario en diferentes estados reproductivos enen la rata, en la actualidad se ha puesto a punto el procedimiento quirúrgico para la extracción del sistemaex vivo integrado Ganglio Mesentérico Superior-Ganglio Celíaco- Ovario (GMS-GC-O). El objetivo de este trabajo fue observar si la presencia de Estradiol (10-6M) en GC y en GMS, en este nuevo sistema modifica a laliberación ovárica de Progesterona, androstenodiona y nitritos(metabolito soluble del óxido nítrico) en el estadio de Diestro I en la rata a través de las vías nerviosas que llegan al ovario, la del plexo nervioso ovárico y el nervio ovárico superior. Los sistemas se incuban con/sin la presencia de estradiol (10-6 M) en el GC y GMS. En todos los casos se utiliza una cubeta diseñada para tal fin con solución de Krebs Ringer pH 7,4 adicionado de glucosa y albúmina en baño metabólico a 37º. Se extrajeron muestras a los 15,30,60, 120 min. Los resultados muestran que cuando se adicionó estradiol (10-6 M) en el GCProgesterona aumentó a los 15, 60, 120 min (*$p<0.001$) y a los30min.( $p<0.05$), mientras en GMS estimuló solo a los 15 y 60 minutos (* $p<0.001$). Con Estradiol en GC Androstenodiona aumentó a los 15 min. ($p<0.05$) y 60 minutos (*$p<0.001$), pero a los 120 min. disminuyó (*$p<0.001$) con respecto al grupo control. Cuando se estimula el GMS, solo aumentó a los 15 y 60 minutos (*$p<0.001$).En los nitritos, estradiol aumentó la liberación en ambos casos (*$p<0.001$)aunque con un patrón diferente. Los resultados muestran fisiológicamente la presencia de receptores para estradiol en el ámbito ganglionar y pone en evidencia la relevancia fisiológica de las neuronas descriptas en el sistema nervioso periférico como son las que constituyen el GMS y el GC en el control de las funciones ováricas. Mediante la utilización de este esquema experimental se muestra que el sistema neural a través de un mecanismo interrelacionado, es un modulador fino de las estructuras responsables de la esteroidogénesis integrando el SNP y endocrino.

POS 06
Fisiología y fisiopatología del SNC
CNS Physiology and Pathophysiology

POS 06-01

Striatal dopamine release induced by pesticides. Alfonso, M, Faro, LRF*; Santana, MB*; Campos, F*; Vidal, L; Cervantes, RC; Duran, R. Departamento de Biologia Funcional y Ciencias de la Salud,Universidad de Vigo (España). *Depto. de Fisiologia, CCB, Universidade Federal do Pará (Brasil).

Pesticides are toxic agents that are able to induce health problems in humans. Some biochemical effects induced by pesticides are inhibition of activity of enzymes, as the acetilcholinesterase (Marrs, *Pharmacol*. *Ther*. 5, 51, 1993), production of reactive oxygen species (Corasaniti, *Funct*. *Neurol*. 6, 385, 1991), alterations in membrane channels, and inhibition of electronic transport (Kackar, *Indian* J. Exp. Biol. 37:553, 1999). The aim of the present work is to study the effect of different types of pesticides on the *in vivo* striatal dopamine (DA) release. Sprague-Dawley adult rats (230-280 g, 5 per group) were used in the experiments. The pesticides MANEB, Dicofol, DDT, Paraquat and Lindane (in doses of 1 mM), were administered directly into the striatum through a membrane probe for brain microdialysis. Levels of DA, obtained from dialysates, were measured using HPLC with eletrochemical detection. Statistical analysis was made by means of ANOVA and Student-Newman-Keuls test. Significant differences were as follow: $P<0.05$ and $P<0.01$. The administration of the different types of pesticides induced the following maximal effects on the DA extracellular levels: Maneb 791+187%; Dicofol 101+0,7%; DDT 683+65%; Paraquat 956+80%; Lindane 281+28%. So, the most of the pesticides used by us induced increases in the DA extracellular levels, being Paraquat and Maneb the pesticides that induced the main effects, in our experimental conditions. However, Dicofol (1 mM) did not induce any significant effect on DA extracellular levels. These results showed that the pesticides used by us induced *in vivo* striatal dopamine release.

POS 06-02

Reduction of creatine kinase activity in hippocampus of rats subjected to hypermethioninemia. Francieli M. Stefanello, Virgínia C. Rech, Fernanda B. Mello, Cristiane B. Mattos, Clovis M.D. Wannmacher and Angela T.S. Wyse. Departamento de Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre, RS.

Hypermethioninemia is the biochemical hallmark of many metabolic disorders such as methionine adenosyltransferase deficiency. Affected patients present neurological manifestations, including cognitive deficit, mental retardation and cerebral edema, whose underlying mechanisms are still obscure. Creatine kinase (CK) is a thiolic enzyme crucial for energy homeostasis in the brain. Therefore, in the present study we evaluated the effect of acute and chronic administration of methionine on cytosolic (Cy-CK) and mitochondrial (Mi-CK) creatine kinase activities in rat hippocampus. For acute treatment, 29-day-old rats received a single subcutaneous (s.c.) injection of methionine (2.68 μmol/g of body weight) or saline (control) and were sacrificed 30 min, 1, 3 or 12 h after injection. For chronic treatment, animals were treated daily with twice s.c. injection of methionine (1.34 - 2.68 μmol/g of body weight) or saline from the 6^{th} to the 28^{th} day of life and were killed 3 or 12 h later. Results showed that chronic hypermethioninemia significantly inhibited Mi-CK (around to 26 %) when measured 3 h after the last injection of methionine. In contrast, CK was not altered when the animals were sacrificed after acute or 12 h after the last injection of chronic treatment. Considering the importance of CK for the maintenance of energy homeostasis in the brain, if this enzyme inhibition also occurs in hypermethioninemic patients, it is possible that CK inhibition may contribute to the neuropathology observed in hypermethioninemic patients. Supported by: CNPq, PRONEX / FAPERGS, PROPESQ / UFRGS.

POS 06-03

Getting information about saxitoxin effects, a powerful neurotoxic compound known as paralytic shellfish poisoning (PSP) in discrete rat brain regions R.C. Cervantes[1], M. Alfonso[2], R. Durán[2], L. Vidal[2], A. Gago[3], J.M. Leao M. [3], [1]Instituto Tecnológico de Boca del Río, Ver., Mexico, [2]Depto. de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, [3]Departamento de Química Analítica y Alimentaria, Universidad de Vigo.

PSP is a serious public health concern through the world. Saxitoxin (STX) is one of several related toxins that cause PSP. Certain dinoflagellates (e.g. *Alexandrium catenella*, *Alexandrium tamarense*, *Karenia brevis*) are capable of producing STX, which is a powerful neurotoxic compound which block the sodium channels voltage sensitive, entailing to the appearance of the main symptoms of the poisoning by PSP: Muscular paralysis and respiratory depression (Lipkind, G., 1994). The aim in this study is to analyze the effect of STX in discrete rat brain region after acute intraperitoneal administration of STX. Thirty minutes after STX administration (10 $\mu g\ kg^{-1}$), animals were sacrified by cervical dislocation. Brains were removed and dissected in:

hypothalamus (H), striatum (S), midbrain (MB), frontal cortex (FC), brain stem (BS), hemispheres right and left (HR and HL).The effects of STX were evaluated by mean of neurotransmitters which were analyzed by using a HPLC method with electrochemical detection. Systemic administration of STX produced an increase of dopamine (DA) in H (1371.75 ± 284.80); in S (7,077 ± 359.2 pg/mg); in MB (375.96 ± 89.44 pg/mg); in BS (429.97 ± 74.68 pg/mg); in HR (1324.67 ± 35.90 pg/mg) and in HL (1364.88 ± 88.09 pg/mg) and a decrease in FC (7,077 ± 359.2 pg/mg). Statistical analysis of the results was accomplished by means of ANOVA and the test of Student-Newman-Keuls, considering significant differences: $P < 0.01$ and 0.05. These results suggest that systemic administration of STX reaches the brain producing alterations in neurotransmission increasing the levels of DA in some different brain regions studied.

POS 06-04

Pro-inflammatory cytokines and MAPK p38 pathway are associated to neuronal death in brain regions of rats neonatally exposure to glutamate. [1]Chaparro-Huerta, V., [2]Rivera-Cervantes, M.C., [1]Flores-Soto, M.E., [1]Feria-Velasco, A. and [1,2]Beas-Zárate, C. [1]Lab. Neurobiol. Cel. y Molec., Div. de Neuroc. C.I.B.O., IMSS, [2]Lab. Microscopio de Alta Resol., Lab. de Desarrollo y Regeneración Neural, Dpto. Biol. Cel, y Mol., C.U.C.B.A, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jal. México.

Proinflammatory cytokines, TNF-α, IL-1β and IL-6 rises significantly during neuronal damage and they activate signaling p38 MAPK pathway which is involved in the neuronal death by apoptosis (AP). Systemic administration of glutamate (monosodium glutamate: MSG) to newborn rodents induces neuronal damage through neuroexcitotoxic events, nevertheless if the neurons die by AP or necrosis through MAPK pathway p38 dependently on proinflammatory cytokines it is unknown. In this work, the proinflammatory cytokines expression were evaluated using ELISA and RT-PCR techniques and the role of signaling pathway p38 MAPK in the neuronal death was also evaluated using morphologic and immunohistochemistry techniques and the brain regions were cerebral cortex (CC), striatum (St) and hippocampus (Hp) of rats at 8, 10, and 14 postnatal days of age after they were treated with four doses of MSG (4 mg/g, s.c). Four animals groups were constituted as follow: 1) MSG-treated; 2) SB-203580, an inhibitor of p38 pathway; 3) MSG plus SB 203580 administered 30 min before MSG and 4 CTL intact. Results shown a significant increase in TNF-α, IL-1β and IL-6 expression by excitotoxicity induced with MSG in all regions studied compared to control group and with those that received SB 203580 (groups 2 and 3). Results on neuronal death shown that neuroexcitotoxicity produced by MSG was preferably via apoptotic in all ages and regions studied, whereas that presence of SB 203580 was able to inhibit this type of neuronal death. Finally, the presence of TNF-α was observed in both neurons and glial cells. These data indicate that an early exposure to high glutamate into the central nervous system promote a higher neuronal death by apoptosis through signaling p38 MAPK pathway and suggest that pro-inflammatory may play an important role in this neuronal damage whose functional, pathophysiological and behavior implications on adulthood would be explorated.

POS 06-05

La lesión dopamiergica en el núcleo reticular del tálamo induce disminución de la respuesta de ansiedad en la rata sin alterar su conducta motora. [1]Chuc-Meza, [1]García-Ramírez M, [2]Ramírez V, [2]Aceves J. [1]Depto. de Fisiología, ENCB-IPN, [2]Depto. de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN, México.

Se sabe que la inervaciones dopaminérgicas provenientes del área ventral tegmental y de la substancia negra compacta intervienen en la modulación de funciones cognitivas, motoras y posiblemente también en la expresión de conductas ligadas al estado de ansiedad. Recientemente se ha descrito que la SNc envía sus terminaciones nerviosas al núcleo reticular del tálamo (NRT), un núcleo de naturaleza GABAérgica que recibe información sensorial y motora y que además es un modulador de la información sensorial que se releva de los núcleos talámicos a la corteza. No existen reportes de cual es el papel de la dopamina en éste núcleo, por lo que en el presente estudio nos avocamos a investigar el efecto de su desnervación dopaminérgica sobre las conductas ligadas a la ansiedad medidas a través de las pruebas de laberinto elevado en cruz (LEC) y de enterramiento defensivo (ED), así como en la actividad motora. En todos los experimentos se usaron ratas previamente lesionadas con 6-OHDA. En la prueba del LEC las ratas lesionadas mostraron un porcentaje significativamente más elevado de entradas y de tiempo de permanencia en los brazos abiertos, respecto a los animales testigo. En la prueba de ED las ratas exhibieron reducciones significativas en la duración del enterramiento respecto a las ratas testigo. Adicionalmente no se encontraron modificaciones de la actividad motora espontánea ni en el desempeño motor en el cilindro rotante (ROTAROD). Considerando estos resultados sugerimos que la reducción de la dopamina en el núcleo reticular del tálamo induce efectos ansiolíticos sin producir deficiencias en la actividad motora.

POS 06-06

La dopamina controla la liberación de glutamato en la substancia nigra. papel de los receptores $GABA_B$. Hernán Cortés Callejas[α], Francisco Paz Bermúdez[β] y Benjamín Florán Garduño[β]. Sección Externa de Farmacología[α] y Departamento de Fisiología, Biofísica y Neurociencias[β], Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, México.

Se evaluó el efecto de la dopamina sobre la liberación

de [^{3}H]-glutamato en rebanadas de Substancia Nigra Reticulata (SNr) con la idea de contribuir al entendimiento de la acción de este neurotransmisor, que puede ser importante en procesos patológicos como la enfermedad de Parkinson. Se emplearon rebanadas de SNr de cerebro de ratas Wistar macho de 200-230 g. Se evaluó el efecto de la dopamina endógena bloqueando los receptores D1 con SCH23390 (1 μM) y los receptores D2 con L-sulpiride (100 μM). Contrario a lo esperado, el bloqueo de los receptores D1 en ratas normales facilitó la liberación de [^{3}H]-glutamato de forma significativa (55± 4%), mientras que el bloqueo de los D2 la inhibió (28±1%). Los mismos resultados se obtuvieron en rebanadas de ratas reserpinizadas cuando los receptores fueron estimulados con dopamina exógena. Para entender el efecto paradójico de la activación de los receptores dopaminérgicos, estudiamos el papel de los receptores $GABA_B$ en la liberación de glutamato. El antagonista de los receptores $GABA_B$, el saclofén (100 μM) aumentó significativamente la liberación de glutamato (43±7%), lo que muestra la acción inhibidora tónica del GABA endógeno vía receptores $GABA_B$ sobre la liberación de glutamato. Para ver el efecto real de la activación de los receptores a dopamina, bloqueamos los receptores $GABA_B$ en ratas reserpinizadas. La activación de los receptores D1 produjo un incremento significativo de la liberación de [^{3}H]-glutamato (57±9%), mientras que la activación de los receptores D2 produjo una inhibición (36±8%). Los resultados sugieren que los receptores $GABA_B$ pueden modular la actividad de los receptores a dopamina en la SNr.

POS 06-07

Papel neuroprotector de la vía ERK en CA2 y CA3 del hipocampo y corteza cerebral de ratas sometidas a neurotoexitotoxicidad con glutamato en la edad neonatal. ♱.Montes-González R[1†]., Chaparro-Huerta, V[1]., Rivera-Cervantes, M.C.[2] y Beas-Zárate C[1,2]* (cbeasruve@infosel.net.mx). [1]Laboratorio de Neurobiología Molecular, CIBO-IMSS y [2]Laboratorio de Desarrollo y Regeneración Neural, Depto. de Biol. Cel. y Molec., C.U.C.B.A., U. de G.

La neuro-excitótoxicidad es un fenómeno común en diversis estados patológicos. El SNC en etapa neonatal es más susceptibilidad al daño. Los mecanismos de la excitotoxicidad se relacionan con un incremento de Glutamato (Glu) extracelular, la sobre-activación de sus receptores, incremento de Ca^{++} y activación de vías de señalización intracelular. La vía ERK, regula señales de sobrevivencia y de muerte celular en respuesta a daño excitotóxico. Sin embargo, el papel de esta vía ERK después de un evento neuroexcitotóxico no se conoce aún. En el presente trabajo se evaluó la expresión ERK en corteza cerebral (CC) e hipocampo (Hp) de ratas con excitotóxicidad por administración neonatal de Glu. Ratas macho Wistar se les administró Glu (GMS) 4mg/g de p.c. al 1, 3, 5, 7 días de edad postnatal (EP). Se determinó la máxima expresión de ERK 1 y ERK 2, se cuantificó la inmunoreactividad de ERK el RNAm para Bcl-2 en CC eHp a los 8 días de EP. Los resultados muestran una máxima actividad de la vía ERK 24 hr después del tratamiento con GMS (8 EP) en CC e Hp. También un incremento en la inmunopositividad de la vía ERK y muerte neuronal por el GMS en CC e Hp, el incremento fue mayor en CA2, CA3 del Hp y en CC después de inhibir la vía ERK con U0126, los niveles de Bcl-2 se incrementaron en el grupo tratado con Glu en el Hp. Los resultados indican que neuronas de CA2 y CA3 activan mecanismos de neuroprotección vía ERK, mismos que no se presentan en neuronas de CA1 y sugieren que estos mecanismos se activan después de un exceso de Glu. ♱Financiado FOFOI No. IMSS-2004/005; CONACyT No. U48002-M al UDG-CA-414. †Beca CONACyT No. 170299 a R. M. G.

POS 06-08

Efectos de dos derivados del ácido succínico sobre la amnesia inducida por escopolamina. Judith Espinosa-Raya, Noemí Plata, José Trujillo-Ferrara, Ofir Picazo. Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional. México. judaer@hotmail.com

La alta densidad de receptores muscarínicos M1 en el hipocampo sugiere que el sistema colinérgico juega un papel importante en los procesos de memoria y aprendizaje. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de dos derivados del ácido succínico sobre la amnesia inducida por escopolamina usando el laberinto elevado en forma de T y la prueba de aprendizaje por automoldeamiento. Además se evaluó la unión de los derivados a los receptores muscarínicos M1 por cálculos teóricos. En las simulaciones de acoplamiento ("docking") se demostró que la succinamida y la succinimida de *p*-aminofenol se unen a receptores muscarínicos M1, destacando la unión de la amida a un sitio alostérico intracelular. La amnesia inducida por escopolamina fue revertida por la succinamida pero no por la succinimida en la prueba de aprendizaje por automoldeamiento. En el laberinto elevado en forma de T ambos derivados revirtieron el efecto de la escopolamina y además se observó que sólo la succinimida facilita la adquisión de la memoria. Estos efectos no fueron influenciados por cambios en la locomoción o en la motivación para explorar. Estos datos apoyan el uso del laberinto elevado en forma de T para evaluar drogas con acción colinérgica para el tratamiento del déficit cognitivo asociado a enfermedades neurodegenerativas.

Agradecimientos: CONACyT, SIP-IPN y COFAA

POS 06-09

Estudio de la conducta de giro inducida por L-dopa en el Parkinson Experimental. Efectos mediados y no mediados por su conversión a dopamina. Claudia Rangel (1), Isaac Silva (2) y Benjamín Florán (1). (1) Depto de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados y (2) Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Quéretaro. Mexico

Se han sugerido efectos de la L-dopa activando receptores D1 y D2, sin necesidad de ser convertida a dopamina. En esta trabajo deseamos explorar si esto ocurre con la conducta de giro en el Parkinson Experimental. Estudiamos el giro inducida por L-dopa en el modelo de lesión unilateral del sistema dopaminérgico de la rata bajo dos condiciones: con y sin protección de las neuronas noradrenérgicas con desipramina (10 mg/Kg. peso) 40 minutos antes de inducir la lesión con 6-hidroxidopamina en el haz del cerebro medio. La conversión de L-dopa a dopamina fue bloqueada por la administración conjunta de carbidopa (12.5 mgrs/Kg.) y NSD 1015 (100 mgrs/Kg.), inhibidores de la descarboxilasa periférica y central respectivamente. En ratas sin desipramina, la L-dopa (25 mgrs/Kg) produjo conducta de giro contralateral (496 ± 19 giros/minuto), la cual disminuyó significativamente cuando se administró NSD (227±26 giros/minuto), pero no se eliminó por completo. En ratas con desipramina, la L-dopa produjo conducta de giro de menor intensidad a las ratas no tratadas, además el bloqueo de la descarboxilación con NSD disminuyó el efecto de la L-dopa con respecto del vehículo (175±11 vs. 72±9 giros/minuto). El efecto de la L-dopa en ratas sin desipramina se bloquea casi por completo cuando se administra el l-sulpiride(26±2 giros por minuto) Estos datos sugieren que los efectos de la L-dopa sobre la conducta de giro en el Parkinson experimental no requieren necesariamente su conversión a dopamina y destacan la participación del sistema noradrenérgico en el efecto de la L-dopa. Esto indica que la L-DOPA también induce el giro actuando no como precursor de dopamina, sino como agonista dopaminérgico de los receptores D2.

POS 06-10

La estimulación de los receptores H_3 A histamina en diferentes núcleos de los ganglios basales induce giro en ratas con administración sist{emica de apomorfina. [1]García-Ramírez M, [1] Chuc-Meza E, [2]Arias-Montaño JA. [1]Depto. de Fisiología, ENCB-IPN, [2]Depto. de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, CINVESTAV-IPN, México.

Estudios recientes han revelado la presencia de receptores H_3 en los ganglios basales de humanos y de ratas. Por un lado, ha sido mostrado que en las neuronas GABAérgicas estriado-nigrales existe co-localización de los receptores D_1 y H_3 que al ser estimulados producen inhibición de la liberación de GABA (García et. al, 1997: Arias Montano et. al., 2001) mientras que, en las neuronas estriado-palidales existe co-localización de receptores D_2 y H_3 cuyo bloqueo produce catalepsia (Pillot et al, 2002). Todo lo anterior sugiere que la histamina, actuando a través de los receptores H_3, podría modular de manera importante la actividad motora. Para abordar este punto se insertó por separado una cánula de inyección en cada uno de los núcleos en los que ha sido reportada una mayor densidad de receptores H3; el estriado, la sustancia negra reticulada y el globo pálido externo. A través de la cánula se administró localmente el agonista selectivo para receptores H_3, immepip, a dosis crecientes (3ng-30ng) y posteriormente se les inyectó por vía sistémica apomorfina (0.5 mg/Kg). Este tratamiento produjo giro ipsilateral que dependió de la dosis utilizada y que fue revertido por el previo bloqueo de receptores H_3 con tioperamida. En cualquiera de los núcleos estudiados el giro producido fue ipsilateral y ni el immepip, ni la apomorfina produjeron giro por sí solos. Todos estos resultados nos indican que los receptores H_3 presentes en estos núcleos podrían modificar la salida sináptica en los ganglios basales y producir giro en las ratas tratadas con apomorfina. Se requiere de estudios posteriores para entender el papel de los receptores H_3 en el control motor de las ratas. García-Ramírez y Chuc-Meza son becarios de COFAA.

POS 06-11

Connections between the glomerular nucleus and hypothalamic nuclei in *Gymnotus sp*. Giassi, ACC; Pereira, ASF; Hoffmann, A. Department of Physiology, FMRP, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil.

The structure named G in the atlas of the brain of *Apteronotus leptorhynchus* and in numerous other publications received its name due to its location and morphological appearance in comparison with other teleosts, particularly percomorph fishes. In the latter, the G is characterized by the presence of glomeruli and by its neural connection with specific brain regions, acting as a relay station that transfers visual information to the hypothalamus. In *Gymnotus sp*., a similar round large nucleus with glomerulous appearance, also denominated G, located in a region between the ventral thalamus and the inferior lobe is present, although its homology with percomorph G and its insertion in the visual sensory processing is still unknown. Hodological investigations are useful tools to compare nuclei in different species providing cues for understanding its origin and even function, together with the phylogenetic relationship between the groups. In order to identify the connections of G, especially with the hypothamus, we employed an *in vivo* tract-tracing technique with biotinylated dextran amine (BDA). Iontophoretic injections into G of *Gymnotus sp*. were made in accordance with previous studies (Brain Behav Evol 52: 81-98, 1998). After transport, perfusion and sectioning, and during tissue processing, BDA labeling was visualized using a standard avidin-biotinylated HRP method with a nickel-intensified peroxidase 3-3´ diaminobenzidine dihydrochloride reaction. The results show bi-directional connections of G with the nucleus tuberis anterior and with the central nucleus of the inferior lobe. Input from the anterior hypothalamus was also observed. These projections to hypothalamic nuclei are in accordance with previous hodological studies in other species and suggest that G may relay information to the hypothalamus also in gymnotiform fishes. However, more connectional and physiological investigations will be necessary to reliably recognize its involvement in the visual processing and its homology. These results are part of a study that intends to fully characterize and examine G afferent and

efferent connections, morphology, cytoarchitecture and function. *Supported by CAPES and FAEPA*.

POS 06-12

Participación del sistema de modulación endógena del dolor en el mecanismo de acción de la gabapentina. Caroline González, Meyerling Bethancourt, María de los Angeles Rodríguez, Victor Tortorici, Lab. de Neurofisiología, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Venezuela.

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto del análogo lipofílico del ácido γ-aminonbutírico (gabapentina) sobre las respuestas ante la aplicación de estímulos inocuos y nocivos, mientras se efectuaron experimentos conductuales y registros electrofisiológicos en diferentes estaciones del eje de modulación del dolor en animales neuropáticos y sus respectivos controles. Para producir la neuropatía se empleó el modelo de constricción crónica del nervio ciático y una vez definido el intervalo donde se hacen más evidentes los signos de la neuropatía, se procedió a administrar diferentes dosis de gabapentina por vía intraperitoneal (i.p.), por microinyección en la sustancia gris periacueductal del mesencéfalo (SGPA), o por microinyección en la región ventromedial del bulbo raquídeo (RVM). En esta última estación, también se realizaron registros extracelulares de las células ON y OFF, las cuales constituyen, respectivamente, el brazo facilitador y el brazo inhibidor del sistema de modulación endógena del dolor. De acuerdo a los resultados obtenidos al realizar las pruebas conductuales, la gabapentina ejerce una acción antihiperalgésica y antialodínica al ser administrada por vía i.p. Por su parte, los ensayos electrofisiológicos mostraron que la gabapentina al ser administrada vía i.p., fue capaz de atenuar o inhibir la actividad de las células ON y de ejercer un efecto recíproco sobre las células OFF. No obstante, la microinyección de la droga en la SGPA no produjo ningún efecto sobre las células de la RVM. Estos resultados sugieren que la gabapentina posee un efecto a nivel central, posiblemente a nivel del asta dorsal de la médula espinal, al ser administrada por vía sistémica. Este sitio de acción supone un control estricto de toda la información nociceptiva ascendente, que en condiciones basales permitiría la activación de las células ON

POS 06-13

Expresión de la PgPI y contenido tisular de aminoácidos en el cerebro de ratas "kindled" resistentes a fenitoína. Ma. Eva González[1], Graciela Jiménez[1], Sandra Orozco[2], Luisa Rocha[3] y Alberto Lazarowski[4]. [1]Inst. Nal. de Psiquiatría "Ramón de la Fuente". [2]Inst. Mexicano del Seguro Social (IMSS), México, D.F. México. [3]Cinvestav-Sede Sur. México D.F., México.[4]Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

Se sabe que 20-30% de los pacientes epilépticos son refractarios a tratamiento farmacológico, ello podría deberse a alteraciones en la permeabilidad del fármaco a través de la barrera hematoencefálica. Además, el gen de resistencia a fármacos múltiples (MDR1) el cuál codifica la glicoproteína-P (PgP1), se ha involucrado en esta refractariedad. En este estudio se evaluó la expresión de la PgP1 en el cerebro de ratas utilizando un modelo experimental de epilepsia refractaria a fármacos, analizando además el contenido tisular de aminoácidos (AA´s). Ratas Wistar "kindled" mediante estimulación de la amígdala basolateral fueron utilizadas. Después de la adquisición del estado "kindled", 4 ensayos independientes con fenitoína (FNT, 75 mg/kg i.p.) se realizaron para la selección de ratas que responden al tratamiento con FNT mediante la determinación del umbral de la postdescarga. Se obtuvieron 3 grupos: ratas sensibles a FNT (KSEN), variables (KVAR) y resistentes a FNT (KRES). La expresión de la PgP1 se analizó mediante inmunohistoquímica 24 h después de la última crisis "kindled" en diferentes áreas cerebrales mediante microscopia confocal y de fluorescencia. El contenido de AA´s se evaluó por HPLC. La presencia de PgP1 se observó principalmente en células endoteliales, astrocitos y neuronas del hipocampo y la corteza en cerebros de ratas KVAR y KRES. Con respecto al contenido tisular de AA´s el grupo KSEN mostró un incremento mientras que KVAR y KRES presentaron una disminución en los niveles de glutamato, GABA, alanina, taurina y glutamina en áreas como el cuerpo estriado. Estos datos sugieren que una disminución en la penetración de FNT al cerebro de la rata por la presencia de la PgP1 podría estar involucrada en la respuesta variable y resistente al tratamiento farmacológico en este modelo experimental alterando como consecuencia los niveles de AA´s.

POS 06-14

Efecto del estress nutricional fetal en el desarrollo de la circuitería neuronal de la corteza somato-sensorial de la rata [a] Medina AI, [b] Gutiérrez OG, [c] Hernández RJ. [a] Manjarrez GG, [a] Laboratorio de Neuroquímica. UIM en Enfermedades Neurológicas. CMN, Siglo XXI, IMSS. [b] Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM y [c]CINVESTAV IPN.

Objetivo. Determinar si el estrés nutricional fetal produce un retardo de la llegada de las aferencias tálamocorticales, una disminución de la expresión de la proteína transportadora de 5-hidroxitriptamina (5-HT) (SERT) y del receptor 5-HT_{1B} en la capa IV de la corteza somato-sensorial (S1). **Material y métodos.** Se utilizó un modelo experimental de estrés nutricional fetal. Al nacimiento, 3, 5, 7, 9,11 y 15 días de vida, se obtuvo la S1 en donde se determinó del arribo de las aferencias tálamo-corticales mediante marcaje anterógrado con Dil; SERT y el receptor 5-HT_{1B} por inmunocitoquímica. **Resultados.** No existió retardo de la llegada de las fibras talámicas a la S1 en los animales estresados al nacimiento. Interesantemente mostraron una aceleración en la aparición y formación de los barriles corticales al tercer día. Sin embargo fue notorio que la cito-

arquitectura de los barriles estuvo alterada y existió una menor expresión de SERT y receptor 5-HT_{1B}. **Conclusiones.** Las crías estresadas nutricionalmente no mostraron un retardo de la llegada de las fibras talámicas a la S1, sin embargo interesantemente tuvieron una aceleración en la aparición de los barriles corticales al tercer día de vida. Además una alteración de la cito-arquitectura y una menor expresión de SERT y del receptor 5-HT_{1B}. Estos hallazgos en conjunto nos permiten plantear que la 5-HT tiene un papel importante como señal de tiempo en la aparición y formación de los barriles de la capa IV de la corteza somato-sensorial. Este trabajo se realizó gracias al apoyo financiero otorgado por el IMSS

POS 06-15

Efeito da desnutriçao protéica sobre as reservas de glicogenio no hipotálamo de ratos. [1]Lima dos Santos, M. C.; [1]Lima, S.S.; [1]Sinder, M.P.; [1]Marcelino, A.A.*; [2]Moura, A. S.; [1]Barradas, P.C.; [1]Tenorio, F; [1]Farmacologia e Psicobiologia, UERJ; [2]Fisiologia, UERJ.

A glicose é a principal fonte de energia do cérebro. Em casos de requerimento metabólico intenso a glicose é obtida a partir do glicogênio. Ratos apresentam glicogênio em neurônios e células astrocitárias no desenvolvimento. Ratos submetidos a jejum apresentam alterações no acúmulo de glicogênio cerebral. Neste trabalho pretendemos avaliar o efeito da desnutrição protéica sobre essas reservas e o fenótipo das células hipotalâmicas que o acumulam. Foram usadas ninhadas com 6 animais por nutriz. Um grupo (C) foi mantido com ração normoprotéica, enquanto o grupo experimental recebeu ração aprotéica nos 10 primeiros dias de amamentação (D). Os ratos foram sacrificados entre 10-30 dias e perfundidos com salina e paraformaldeído a 4%. Os cérebros foram cortados em criostato e recolhidos em lâminas e submetidos à reação pelo método do Ácido Periódico (PAS). Alguns cortes foram submetidos a imunohistoquímica com anticorpos anti-GFAP ou anti-GLUT2, um transportador de glicose que está presente apenas em tanicítos no hipotálamo de ratos. Foram observados perfis radiais com glicogênio na borda do 3º ventrículo. A marcação foi menor em animais D em todas as idades. Houve co-localização de GLUT2 nas células onde se observou marcação para glicogênio, mas não GFAP.

POS 06-16

Papel de la adenilato ciclasa 9 en la cascada de señalización disparada por GABA en reuronas Gn.rhérgicas. Cecilia Martín, Jessica Jacobi, Gabriel Nava, Michael C. Jeziorski, Carmen Clapp, Gonzalo Martínez de la Escalera. Instituto de Neurobiología, Universidad Nacional Autónoma de México. Campus UNAM-Juriquilla, Querétaro, 76230, México.

El ácido γ-aminobutírico (GABA), actuando a través de receptores ionotrópicos $GABA_A$, produce un efecto bifásico sobre la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la línea celular GnRHérgica GT1, incluyendo una activación transitoria rápida y una inhibición tardía sostenida. La primera involucra un aumento en la $[Ca^{2+}]_i$ vía la apertura de canales de calcio operados por voltaje tipo L (CCOVL), y la segunda una disminución sostenida en la $[AMPc]_i$ a través de un mecanismo hasta ahora desconocido. Empleando la PCR en tiempo real encontramos que las neuronas GT1 expresan 8 de las 9 isoformas conocidas de las adenilato ciclasas (AC), incluyendo a las tipo 3, 5, 6 y 9, que son inhibidas por incrementos en la $[Ca^{2+}]_i$. También encontramos que la apertura farmacológica de canales CCOVL con BayK 8644 mimetiza el efecto del GABA, induciendo una inhibición significativa de la síntesis del AMPc, mientras que el bloqueo de los canales CCOVL con verapamil revierte la caída en la síntesis del AMPc producida por el GABA. El bloqueo de la calcineurina con deltamethrin neutralizó el efecto inhibitorio del GABA, mientras que el bloqueo de la CamKII con KN-62 no tuvo efecto alguno, sugieriendo que en las células GnRHérgicas del linaje GT1, el GABA genera un incremento transitorio de la $[Ca^{2+}]_i$ que activa a la calcineurina, y a través de ella una desfosforilación de la AC9, disminuyendo significativamente la síntesis del AMPc, y como consecuencia la secreción de la GnRH. En este trabajo hemos contado con la asistencia técnica de Fernando López, Daniel Mondragón, Antonio Prado, Pilar Galarza y Anaid Antaramián.

POS 06-17

Folate treatment prevents memory deficits caused by chronic hyperhomocysteinemia. Cristiane Matté, Emilene B. Scherer, Francieli M. Stefanello, Carlos Alexandre Netto and Angela T. S. Wyse. Laboratory of Inborn Errors of Metabolism, Department of Biochemistry, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil.

Hyperhomocysteinemia has been described as a risk factor for neurodegenerative and vascular diseases. Elevated levels of homocysteine (Hcy) also occur in homocystinuric patients, resulting in mental retardation, psychiatric disorders, seizures, and vascular disturbs. We previously showed that chronic hyperhomocysteinemia impairs memory performance in Morris water maze task. Considering that folic acid is the main methyl donor on Hcy remethylation to methionine, in the present study we investigated whether the treatment with folic acid would act on hyperhomocysteinemia-induced memory deficits in Morris water maze task. Chronic hyperhomocysteinemia was induced from the 6^{th} to the 28^{th} day of life by subcutaneous injection of Hcy (42-80 mg/Kg). Control rats received the same volume of saline solution. Half of the Hcy- and saline-treated rats also received intraperitoneal administration of folic acid (5 mg/kg) from the 6^{th} to the 28^{th} day of life. On the 60^{th} day of life, rats were subjected to water maze task. Results showed that hyperhomocysteinemia impaired memory of the platform location and that Hcy-treated animals presented fewer crossings to the place where the platform was located in training trials, and

increased the latency to cross the location of the platform when compared to control animals. In the working memory task, Hcy-treated animals also needed more time to find the platform. Confirming our hypothesis, hyperhomocysteinemic rats treated with folic acid had those impairments prevented. Assuming that Hcy might impair learning/memory in human beings, our results support a new potential therapeutic strategy based on folic acid supplementation to prevent the cognitive deficits found in hyperhomocysteinemia. Supported by: CNPq, FAPERGS, PROPESQ/UFRGS.

POS 06-18

Efecto de la quinina sobre la actividad epileptiforme inducida por 4-aminopiridina en el circuito corteza entorrinal-hipocampo de ratas en libre movimiento. Laura Medina Ceja, Consuelo Ventura Mejía, Abraham Zanabria Ortiz, Maria del Socorro Barajas Mercado, Zaid Júnior Martínez Rincón, Kenia Pardo Peña, Zoila Mariela Rodríguez González, Luisa Gabriela Núñez García. Departamento de Biología Celular y Molecular, CUCBA, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.

Las uniones comunicantes (UC) contribuyen al acoplamiento eléctrico entre las células del Sistema Nervioso, están formadas por la unión de dos conexones, cada uno de los cuales consiste de 6 subunidades proteícas llamadas conexinas (Cx). En particular la Cx36 se expresa de manera exclusiva en las neuronas, entre las que se encuentran las células del hipocampo. Recientemente se ha destacado la participación del acoplamiento eléctrico a través de UC en la actividad epileptiforme inducida en diferentes modelos *in vitro* e *in vivo*. En el presente trabajo, se determino el efecto del bloqueador especifico de las UC conformadas por Cx36, en el inicio, desarrollo y propagación de la actividad epileptiforme inducida por la administración de la 4-Aminopiridina (4-AP, 10nmoles/µl) en el circuito corteza entorrinal-hipocampo de ratas despiertas; así como la relación entre esta actividad eléctrica y la conducta de los animales. Después del registro EEG basal (30 min), la 4-AP fue inyectada y una vez establecida la actividad epileptiforme y conducta convulsiva se inyectó la quinina (35pmoles /µl) y el registro se continúo por 90 min más. Diez minutos después de la administración de la quinina se produjo una disminución de la conducta convulsiva a 1 y 0 en la Escala de Racine modificada, así como bloqueo de la actividad epileptiforme aproximadamente 15 min posteriores a su inyección. En el grupo de solo quinina, no se observo conducta o actividad EEG anormal. Estos datos sugieren la posible participación de las UC neuronales en el inicio y la propagación de la actividad epileptiforme en este modelo en particular. *Apoyado por PITI2006/P3E2006, U. de G.*

POS 06-19

Participación de la vía de señalización P38/SAPK en la muerte neuronal hipocampal, en un modelo de excitotoxicidad por GMS. Navarro-Meza M[1]., Chaparro-Huerta V[2]., Reyes-Gomez J[3]., Beas-Zarate C[1,2]., Feria-Velasco A[1]., Rivera Cervantes M[1]. [1]Laboratorio de Neurobiología, Universidad de Guadalajara; [2]CIBO, IMSS; [3]Facultad de Ciencias, Universidad de Colima; México.

La estimulación excesiva de los receptores a glutamato (R-Glu) ionotrópicos, como son el R-NMDA y el R-AMPA, producen excitotoxicidad en varias regiones cerebrales. La composición molecular de estos receptores y su regulación por sistemas de señalización intracelular podría ser determinante en el desarrollo de mecanismos neurodegenerativos progresivos en el sistema nervioso central. Un estudio del daño morfológico neuronal, la participación de la vía p38, y los cambios en la expresión de algunas de las subunidades de los R-Glu, por RT-PCR; fueron evaluados en el hipocampo de ratas en edad neonatal, a las cuales se les administró glutamato monosódico (GMS), vía s.c., (4mg/g de peso corporal). La disminución en el número de neuronas con morfología normal se observó entre los 8 y los 14 días EP en animales tratados con GMS; estos resultados son consistentes con un análisis de viabilidad celular. Además los cambios morfológicos fueron prevenidos por el SB203580, un inhibidor de la vía de señalización p38. Por otra parte se observó un incremento en la expresión de la subunidad NR1, GluR1 y una disminución de GluR2; la administración del inhibidor de la vía p38 no induce efectos significativos sobre el nivel de expresión de NR1; sin embargo, el cambio en el nivel de expresión de las subunidades del R-AMPA por efecto del GMS es evitado al administrar el SB203580 previo al GMS. Los resultados sugieren que el proceso de daño neuronal es mediado, por lo menos parcialmente, vía p38 y que un probable mecanismo, sería a través de la regulación de la expresión de las subunidades a los R-Glu que favorezcan la formación de receptores permeables a Ca^{++}. Este trabajo fue financiado parcialmente por: CONACyT No. U48002-M al UDG-CA-414 y promep (proyecto 103.5/05/1655.

POS 06-20

An ultrastructural study of cell death in the ca1 pyramidal field of the hippocampus in rats submitted to transient global ischemia and 3, 6, 12 and 24 hours of reperfusion. Aline de Souza Pagnussat, Maria Cristina Faccioni-Heuser, Carlos Alexandre Netto, Matilde Achaval, Laboratório de Histofisiologia Comparada, Departamento de Ciências Morfológicas do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

In the course of ischemia and reperfusion a disruption of release and uptake of excitatory neurotransmitters occurred. This is known as excitotoxicity, a process closely related with mitochondrial physiology and that can involve apoptotic and necrotic features. The aim of present study was to characterize the cellular death of pyramidal cells from the CA1 field of the hippocampus

after 10 minutes of transitory global ischemia followed by short reperfusion periods, using electron microscopy. For this study 25 adult male Wistar rats were used. They were divided into 5 groups: 10 minutes of ischemia and 3, 6, 12 and 24 hours of reperfusion and a control group. Transient forebrain ischemia was produced using the 4-vessel occlusive method with minor modifications. The CA1 field pyramidal cells from rat hippocampus submitted to ischemia exhibited intracellular alterations consistent with a degenerative process. These alterations varied in intensity according to the reperfusion period and comprised apoptotic and necrotic features. We observed crescent neuronal and glial modifications, what permitted the classification of the degenerative process into three stages: initial, intermediate and final. With 12 h of reperfusion, there was apparent recovery, and with 24 h of reperfusion, the neuronal damage was more severe. Necrotic-like neurons were found together with some apoptotic bodies, characterizing apoptotic death. It is possible to assert that neuronal death in the CA1 field of rat hippocampus submitted to 10 min of global transient ischemia and early reperfusion times comprise apoptotic and necrotic features, or a process referred to as *parapoptosis*.

POS 06-21

Correlación temporal de ritmos electroencefalográficos y apneas del sueño. Claudia Bentancor[(1)], Zulma Rodríguez-Servetti[(1)], Ricardo A. Velluti[(1)], Marisa Pedemonte[(1,2)]. [(1)]Neurofisiología, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo. [(2)]Fisiología, Facultad de Medicina, CLAEH, Punta del Este. Uruguay.

El sueño es otro estado fisiológico en el que los controles autonómicos cambian. Estos cambios pueden sobrepasar los rangos de normalidad y constituir patologías, por ejemplo, apneas del sueño. La fisiopatología que subyace a la instalación de la apnea es incompletamente conocida por lo que la hipótesis es que podrían existir posibles relaciones entre ritmos electroencefalográficos corticales y las apneas, como fuera previamente demostrado para los cambios del ritmo cardíaco (Pedemonte et al. 2005). El protocolo experimental fue: 1) historia clínica completa, 2) polisomnografía, 3) procesamiento y análisis de los registros electroencefalográficos en relación a los periodos de apneas. Diversas frecuencias de ritmos corticales mostraron incrementos de su potencia (análisis de Fourier) durante las apneas del sueño, épocas en que aparecen alteraciones del control autonómico. Se encontraron variaciones estadísticamente significativas cuando se comparó la potencia de las ondas durante la apnea e inmediatamente antes, en el rango de frecuencias delta y theta. Las frecuencias alfa y beta no mostraron cambios significativos al comparar las ventanas con apneas con ventanas previas, "control", a la apnea. De acuerdo a lo obtenido podemos demostrar la existencia de una correlación temporal entre los períodos de apneas y cambios en la potencia de ritmos corticales que proponemos podría implicar una relación funcional. *Pedemonte M, Rodriguez-Alvez A, Velluti RA. (2005) Electroencephalographic frequencies associated with heart changes in RR interval variability during paradoxical sleep. Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical, 123: 82-86.*

POS 06-22

Activación de receptores D2 dopaminérgicos por L-Dopa en el Globo Pálido de la rata. Isaac Silva (1), Erick Escartín (2), Hernán Cortes (2) y Benjamín Florán (2). (1) Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Quéretaro. (2)Depto de Fisiología, Biofísica y Neurociencias, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. México.

La L-dopa es el fármaco más comunmente usado en la enfermedad de Parkinson. Nuestro grupo de trabajo publicó datos que muestran la activación de receptores D1 por L-dopa, modulando la liberación de GABA en la sustancia nigra pars reticulata de manera directa, es decir sin necesidad de ser convertida a dopamina. En el presente trabajo exploramos si esto mismo puede ocurrir con los receptores D2 presinápticos del globo pálido. Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar de 200-250 grs. de peso a las cuales se les produjo lesión del sistema dopaminérgico nigro-estriatal por inyección de 6-hidroxidopamina (16 µgrs) en el haz del cerebro medio. La evaluación del grado de lesión se realizó cuantificando la conducta de giro al aplicar metanfetamina (10 mgrs/kg i.p) una semana despues de la lesión. Ratas con más de 12 giros/minuto una hora despues de la inyección se seleccionaron para el estudio. Se estudió la liberación de GABA radiactivo, previamente capturado en rebanadas de globo pálido de 300 µm de espesor, inducida por alto K^+ (15 mM). La aplicación de L-dopa inhibió la liberación de GABA de manera dosis dependiente, tanto al aplicarse sola IC_{50}= 0.44 µM (intervalo de confianza de 0.127 a 1.51 µM) como en presencia del inhibidor de la dopa-descarboxilasa el NSD 1015 (100 µM, IC_{50} = 0.39 µM, (intervalo 0.13 a 1.18 µM)). Los efectos de la L-dopa fueron bloqueados por el antagonista selectivo de los receptores D2, el l-sulpiride, el cuál desplazó de manera paralela la curva de dosis respuesta a la izquierda (IC_{50}= 6.49 µM intervalo 2.23 a 18.9 µM). Estos datos sugieren que la L-dopa puede activar los receptores D2 del globo pálido de manera directa sin necesidad de ser convertida a dopamina, lo cual puede contribuir al entendimientos de algunos efectos colaterales de esta droga en el mal de Parkinson.

POS 06-23

Modulación de la activación de ERK1/2 en áreas límbicas por CRH *in vivo*. Susana Silberstein[1], Damián Refojo[1,2], Damián Bellio[1], Matías Acuña[1], Wolfgang Wurst[2], Jan M. Deussing[2], Florian Holsboer[2], Eduardo Arzt[1]. [1]Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular, Departamento Fisiología y Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FCEN), Universidad de Buenos Aires e IFIBYNE-

CONICET. [2]Max-Planck Institute of Psychiatry, Munich.

La hormona CRH, que ejerce su acción a través de sus receptores CRHR1 y CRHR2, es clave en el control de la respuesta conductual, autonómica y neuroendócrina al estrés. Hemos demostrado que la activación de ERK1/2 media los efectos de CRH en corticotrofos y en el sistema nervioso central. Análisis inmunohistoquímico de cortes de cerebro de ratones inyectados icv con CRH mostraron un incremento de pERK1/2 dependiente de CRHR1 en hipocampo y amígdala basolateral ($p<0.05$) -áreas involucradas en procesamiento de información ambiental y comportamental al estrés- pero no en áreas vinculadas a funciones vegetativas/neuroendócrinas. En un modelo de ratón que sobreexpresa CRH específicamente en áreas límbicas (CRHOE) sometido a estrés por inmovilización se observó una severa disminución de pERK1/2 en amígdala ($p<0.01$), en tanto que en condiciones basales los niveles de pERK1/2 fueron similares a los de animales control. Los niveles de glucocorticoides en respuesta al estrés no correlacionaron con la activación de ERK1/2 en esas áreas. Ensayos de binding de CRH indican que la disminución de los niveles de pERK1/2 en los CRHOE sometidos a estrés no puede explicarse por un mecanismo de down-regulation de CRHR1. Estos resultados indican que CRH activa ERK1/2 en areas límbicas involucradas en comportamiento, y que esta activación está regulada negativamente por otros factores por efecto del estrés en condiciones de exposición crónica a CRH.

POS 06-24

Efectos del cadmio y del estradiol sobre la actividad eléctrica de las neurones de la sustancia negra de las ratas. Anderson Noriega, Arelis Torres-Hernández, Jesús A. González-Vegas. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis, Laboratorio de Neurofisiología.

El cadmio (Cd^{2+}) es un peligroso contaminante ambiental. Hay reportes de su presencia en tejidos de animales salvajes con trastornos del sistema reproductivo. En células cancerígenas derivadas de útero y glándulas mamarias de conejo, el Cd^{2+} actúa como un estrógeno (1). También se han reportado efectos del Cd^{2+} en el Sistema Nervioso Central (SNC). Sin embargo, éstos no se han relacionado con los que tienen los estrógenos en el SNC. Debido a que en nuestro laboratorio se han demostrado los efectos del estradiol en la actividad eléctrica de las neuronas de la Sustancia Negra (SN) (2), se decidió realizar un estudio comparativo de las acciones del Cd^{2+} y el 17β-estradiol (E_2) en la actividad eléctrica de las neuronas de la SN, mediante inyección microiontoforética de Cd^{2+} y E_2 directamente en esa estructura. Se utilizaron ratas machos Sprage Dawley (250g de peso, Uretano 20%). La SN se abordó estereotáxicamente y se registró la actividad eléctrica de las células nigrales mediante técnicas electrofisiológicas convencionales. En la mayoría de las neuronas se observó que el Cd^{2+} y el E_2 producen efectos similares. También se pudo constatar sinergismo entre los efectos del Cd^{2+} y del E_2 al aplicarlos simultáneamente. Estos resultados sugieren que los efectos del Cd^{2+} en la SN están estrechamente relacionados con los del E_2, y tal vez compartan mecanismos similares. (1) Johnson, MD., Kenney N, Stoica A, y col. "Cadmium mimics the *in vivo* effects of estrogen in the uterus and mammary gland". Nat Med. 2003 Aug;9(8):1081-4. Epub 2003 Jul 13 (2003). (2) Torres-Hernández, A. y González-Vegas, J.A. "Effects of 17β-estradiol on the spontaneous activity of substantia nigra neurons: Evidence for a non-genomic mechanism". Brain Research 1049, 1-7, 2005.

POS 06-25

Neuronal somatic volume of posteroventral medial amygdala cells from male and female rats across the estrous cycle. Maria Izabel de Ugalde Marques da Rocha, Régis Mestriner, Léder Xavier, Alberto Rasia-Filho, Matilde Achaval, Laboratório de Histofisiologia Comparada, Departamento de Ciências Morfológicas do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

The posteroventral medial amygdala (MePV) is a brain area where gonadal hormones have neurotrophic effects in rats. The aim of the present study was to estimate the MePV neuronal somatic volume from males and diestrus, proestrus and estrus female Wistar rats (n=5 in each group) looking for a possible sexual dimorphism in this parameter. The effect of laterality was also evaluated. The brains of adult animals were sectioned (1 μm), stained with 1% toluidine blue and serial-section reconstructions of each neuronal cell body were obtained. Images from both left and right MePV were studied and somatic volume data were acquired using the Cavalieri method and the point counting technique. Results were compared according to sex and estrous cycle phase, MePV side and their interaction by a two-way analysis of variance and the least significance difference *post-hoc* test. Mean neuronal somatic volume showed a statistical differences between groups, with males displaying higher values than females in proestrus and estrus ($p<0.05$). On the other hand, there were neither an effect of laterality ($p=0.6$) nor an interaction between groups and laterality ($p=0.4$). It is suggested that cell body volume is different between males and females in the MePV across the different phases of the estrous cycle, which may be affecting the functioning of local neurons and integrated neural circuits through plastic and dynamic changes modulated by sex steroids.

POS 06-26

Estudio de los mecanismos de acción el mercurio inorgánico ($HgCl_2$) sobre el sistema dopaminérgico estriatal. Lucía Vidal, Rafael Durán, Lilian R.F.Faro, Francisco Campos y Miguel Alfonso, Lab. Fisiología, Depto. Biología Funcional y

Ciencias de la Salud, Fac. Biología, Universidad de Vigo, España.

El mercurio, que constituye uno de los contaminantes ambientales más peligrosos, afecta a multitud de sistemas funcionales fundamentalmente al sistema nervioso, en donde se ha comprobado que interfiere con la función sináptica. Concretamente, en trabajos anteriores hemos demostrado que la administración *in vivo* de mercurio inorgánico ($HgCl_2$) produce incrementos significativos en la liberación de dopamina en el núcleo estriado de ratas (Faro *et al*., 2001). El objetivo de este trabajo es determinar los mecanismos de acción del mercurio inorgánico ($HgCl_2$) sobre la liberación de dopamina estriatal *in vivo* mediante microdiálisis cerebral. La determinación y cuantificación de dopamina en los dializados se realizó mediante (HPLC) en fase reversa acoplada a un sistema de detección electroquímica. Se evaluaó el posible papel del transportador de membrana utilizando nomifensina (inhibidor de la recaptación de dopamina), la dependencia de calcio externo, y el origen vesicular o citoplasmático de la dopamina utilizando reserpina (depletor de las vesiculas sinápticas). A la vista de los resultados obtenidos se puede postular que la liberación de dopamina inducida por $HgCl_2$ se produce mediante un mecanismo exocitótico, ya que se trata de una liberación vesicular y dependiente de Ca^{+2} externo. Además el efecto de la nomifensina sugiere un mecanismo de acción independiente del transportador. Ref**:-**Faro L.R.F et al. In vivo effects of inorganic mercury ($HgCl_2$) on striatal dopaminergic system. 2001.Ecol. Environ. Saf. 48.

POS 06-27

Phase synchronization in the visual cortex of the rat during a visual discrimination task. Marcelo Aguilar, Bethany Snyder, and Pedro E. Maldonado. CENI y Programa de Fisiología y Biofísica. Facultad de Medicina, Universidad de Chile

In the visual system, physical attributes of object such as orientation and direction of movement activates different early anatomical pathways. Yet, perception of objects is a unitary and continuos experience. A neuronal mechanism, the Temporal Correlation Hypothesis has been proposed to account for the ability of the visual system to recognize multiple patterns and objects. This hypothesis proposes that relations among visual features are established when visual cortical neurons responding to those features transiently synchronize their discharges, thus constituting neuronal ensembles. Here we investigate whether phase synchronization between local field potentials (LFP) signals on the visual cortex is apparent during a visual discrimination task. Using tetrodes, we recorded LFP signals in the primary and secondary visual areas of three rats while they performed a visual task requiring the discrimination of orthogonally oriented bars. We found that the animals performed the task quickly, with a mode response time of 900 ms from stimulus onset. We also found significant differences of phase synchronization in the Beta and Gamma frequency bands, approximately 200 ms after of the stimulus onset ($P < 0.05$) and differences between the correct an incorrect response condition ($P < 0.05$). Our results demonstrate that phase synchronisation is strongest during the early part of the visual response and that the magnitude of this synchronisation is related to the performance of the animals. Supported by ICM P04-068-F and Fundación Guillermo Puelma.

POS 06-28

Estudo da densidade de espinhos dendríticos nas regiões CA1 hipocampal e póstero-dorsal da amígdala medial durante a formacao da memoria. Janaína Brusco, Alberto Rasia Filho, Cyntia Alencar Fin. Departamento de Ciências Fisiológicas, FFFCMPA, Rio Grande do Sul, Brasil.

Acredita-se que alterações no número de contatos sinápticos são fundamentais para a formação da memória e que os espinhos dendríticos constituam o sítio da memória de longa duração. No período de 6 horas pós-treino na tarefa de esquiva inibitória ocorre os picos de atividade das proteínas PKA/CREB-fosforilado e MAPK e conseqüentes alterações bioquímicas na região CA1 hipocampal. As conexões da região póstero-dorsal da amígdala medial (AMePD) com outros núcleos dentro do complexo amigdalóide, com o córtex entorrinal e perirrinal, podem colocá-la em condição direta para modular o circuito trissináptico hipocampal e a formação da memória. O objetivo deste estudo foi determinar a densidade de espinhos dendríticos nas regiões CA1 hipocampal e AMePD de ratos, 6h pós-treino na tarefa da esquiva inibitória. Foram utilizados ratos Wistar machos, entre 2 e 3 meses de idade divididos em 3 grupos (n=6 por grupo): treinado, submetidos à uma sessão de treino em esquiva inibitória (choque 0,6mA); choque, submetidos a um choque elétrico nas patas por 2s (0,6mA); e controle, não submetidos a nenhum tratamento comportamental. Seis horas após o tratamento comportamental, os animais foram anestesiados e seus encéfalos removidos para a realização da técnica de impregnação de Golgi e posterior análise histológica de 8 ramos dendríticos/animal. A densidade de espinhos dendríticos (número de espinhos/μm de ramo estudado) foi submetida ao teste da análise hierárquica da variância, no qual não fora encontrada diferença significativa entre os grupos nas duas regiões estudadas. Estes resultados demonstram que no tempo de 6h após a exposição ao treino na tarefa de esquiva inibitória não houve alteração na densidade de espinhos dendríticos na AMePD e na região CA1 do hipocampo dorsal. Apoio Financeiro: FFFCMPA e CNPq.

POS 06-29

Efeitos do pesticida Actara sobre a captação de colina dependente e independente de sódio em hipocampo de ratos. Klebson Rodrigues, Maxwell Santana, Luis Maués, José Luiz Nascimento, Rafael Barbosa, Lilian Faro, Lab. Neurotoxicologia, Depto de Fisiologia, Universidade Fe-

deral do Pará, Brasil.

Disfunções do sistema colinérgico central são as principais causas da Doença de Alzheimer, patologia neurodegenerativa incurável que acomete principalmente pessoas idosas. Segundo a literatura, fatores genéticos, traumas mecânicos cerebrais, estresse oxidativo e intoxicação por pesticidas, etc., podem provocar tal doença. O Hipocampo parece ser a estrutura mais afetada, possuindo uma considerável rede de neurônios colinérgicos, importante nos processos mnemônicos. Alguns estudos apontam uma grande diminuição, nesta doença, da Colina Acetiltransferase e Acetilcolinesterase, mas problemas no Transporte de Colina pode também trazer conseqüências graves, uma vez que é um dos passos limitantes para a produção de novos neurotranmissores, a acetilcolina. Assim resolvemos investigar a captação de colina dependente e independente de sódio em sinaptossomos do hipocampo de ratos expostos à formulação de pesticida Actara® (princípio Tiametoxam) na dose de 100 mg/kg (Act 100) de peso corporal durante 15 dias. Para isso utilizamos ratos machos Wistar pesando entre 240-300g. Os resultados mostraram que não houve diferença significativa na captação de colina independente de sódio no grupo Act 100 (11,115±1,055 pmol ^{3}H-Colina/min/mg proteína) em comparação ao grupo controle (12,235±1,645). Na captação dependente de sódio, podemos observar uma diferença significativa do grupo Act 100 (6,376±0,428) comparado ao controle (9,421±1,088). ANOVA e *test-t de student* foram as análises estatísticas usadas, adotando-se $p<0,05$ como diferença significativa.

POS 06-30

Effects of the endurance training on the recovery of the locomotion function after sciatic nerve crush in STZ-diabetic rats. Tais Malysz, Jocemar Ilha, Rafaela Araujo, Beatriz Schaan, Matilde Achaval. PPG Neurociências, Depto. Ciências Morfológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Medicina Experimental, Instituto de Cardiologia, RS, Brazil.

Aim: to evaluate the influence of endurance training (ET) on locomotion recovery after sciatic nerve crush (SNC) in diabetic rats. Methods and results: 30 male Wistar rats, 3 month-old, were injected with STZ, 50 mg/kg, iv. Four weeks later were anaesthetized and the right sciatic nerves were crushed for 30 s. In 4th week after SNC the rats began progressive ET for 10 weeks. Groups: G1: SNC trained (n=7), G2: SNC (n=9), G3: trained (n=8), G4: sedentary (n=6). Motor function recovery was evaluated using the sciatic functional index (SFI) weekly for the 13 weeks that followed the SNC. The SFI is based on the analysis of footprints from the measurements (print length, toe spread and intermediary toe spread) of the animal hind feet walking along a corridor, comparing the experimental side parameters with the normal side parameters. Results are expressed in units of functional deficit: 0 is normal and -100 indicate total impairment; they were compared by analysis of variance for repeated measures ($p<0.05$). The glicemic values were 475.1 ± 17.6; 456.8 ± 20.2; 462.7 ± 10.1 and 412.3 ± 15.2 mg/dl for G1, 2, 3 and 4, respectively at the end of training. The SFI were -108.2 ± 4.1; -111.1 ± 3.7; -7.4 ± 0.9 and -2.6 ± 2.0 after SNC and -0.3 ± 2.4; -4.4 ± 2.5; -5.5 ± 1.1 and -4 ± 2.7 after 13 weeks for G1, 2, 3 and 4, respectively. G3 and G4 maintained normal SFIs, with no difference between them ($p>0.05$). SFI from G1 and G2, indicated progressive recovery along of the weeks, with normal motor function at the end of 9th and 10th week after the SNC ($p>0.05$ to G3 and G4). But, of the 9th until the 12th week, G1 mantain the higher values that G2 ($p<0.05$). Conclusion: These results suggest that the ET improve the motor function recovery of the diabetic rats with sciatic nerve crush. *This work was supported by CNPq and CAPES*.

POS 06-31

Receptores Nicotínico e Muscarínicos do Núcleo Tegmentar Pedunculopontino Participam da Analgesia Pós-Ictal Induzida por Pentilenotetrazol. Shimizu-Bassi, G.,Coimbra, N.C. Depto. de Farmacologia, FMRP-USP, SP, Brasil.

A neurotransmissão no período pós-ictal tem sido o foco de muitos estudos, e há evidências sugerindo a ativação de mecanismos antinociceptivos após crises tônico-clônicas, tanto em animais quanto no homem, levando a uma profunda analgesia. De acordo com o trabalho de Freitas e cols. em 2005, a administração periférica de antagonistas de receptores colinérgicos (atropina e mecamelamina), diminuiu significativamente o período de analgesia pós-ictal eliciado por crises convulsivas em ratos Wistar. O alvo deste trabalho foi estudar o envolvimento de receptores muscarínicos e nicotínicos do núcleo tegmentar pedunculopontino (maior núcleo colinérgico do sistema nervoso central), na antinocicepção induzida por crises convulsivas eliciadas pela administração periférica de pentilenotetrazol (PTZ) (60 mg/kg). As crises convulsivas, após cessadas (período pós-ictal), foram seguidas por aumentos significativos nas latências de retirada de cauda (LRCs), mensuradas pelo teste de "tail-flick", por um período de 160 minutos, não perdurando, nesse modelo, mais que 100 minutos para o grupo controle. Para estudar tais receptores, utilizou-se atropina e mecamelamina, antagonistas de receptores colinérgicos muscarínicos e nicotínicos, respectivamente, nas doses de 5ug/0,2uL, microinjetados no núcleo tegmentar pedunculopontino 10 minutos antes da administração intra-peritonial de PTZ. A administração intra-núcleo pedunculopontino de atropina ou mecamelamina, causou um decréscimo significativo na duração da analgesia corrente após as crises convulsivas, porém o antagonismo desse tipo de analgesia pela microinjeção de atropina iniciou-se num período de tempo inferior ao eliciado pela administração de mecamelamina. Concluímos que há o nítido envolvimento de receptores nicotínicos e muscarínicos, embora distinto, localizados no núcleo tegmentar pedunculopontino, na analgesia pós-ictal eliciado pela

administração de PTZ.

POS 06-32

Leptin plasma levels and proopiomelanocortin (POMC) mRNA expression in the arcuate nucleus in the desensitization of feeding behavior after repeated exposure to endotoxin. Borges, BC[1]; Germano, CM[2]; Castro, M[2]; Antunes-Rodrigues, J[1]; Elias, CF[3]; Elias, LLK[1] -Depts of Physiology[1] and Internal Medicine[2] of School of Medicine of Ribeirão Preto; Dept of Anatomy, Institute of Biomedical Sciences[3], University of Sao Paulo.

A decrease of food intake has been shown after a single exposure to lipopolysaccharide (LPS). However, a desensitization of hormone and behavioral responses to repeated exposure to endotoxin has been described. Proopiomelanocortin (POMC) is a well known neuropeptide involved in, possessing a anorexigenic action. The aim of this study was to evaluate the effects of repeated administration of LPS in the leptin plasma levels, POMC mRNA expression and feeding behavior. For these purposes, male Wistar rats (250-300g) received single or repeated injections of LPS (100 mg/kg ip) or saline (0.15 M NaCl, 1ml/Kg), between 0800h-0900h AM, during six days. Food intake was determined after the last injection in previously fasted rats for 16h. Another set of *ad libitum* fed rats was subjected to same injections, and two hours after the last injection, truncal blood was collected by decapitation for measurement of leptin by RIE. For determination of POMC mRNA expression by *in situ* hibridization, animals, *ad libitum* fed, were subjected to the same injections, and four hours after the last injection, rats were anesthetized and transcardially perfused with 4% paraformaldehyde for the brain collection. A single exposure to LPS decreased food intake and weight gain ($p<0.05$), compared to control rats. Repeated injections of LPS induced no changes in the food intake and weight gain compared to the control animals. There was no difference in leptin plasma levels and POMC mRNA expression in the arcuate nucleus after a single and repeated dose of LPS, compared to controls. In conclusion, these data demonstrated that there is a desensitization of the anoretic effect in response to repeated exposure to endotoxin. Proopiomelanocortin expression in the arcuate nucleus is unlikely to be involved in the food intake changes after endotoxin exposure. SUPPORTED BY: FAPESP, CNPQ, FAEPA.

POS 06-33

Relationships among cortisol (CRT) and declarative memory in elderly caregivers of dementia patients. Kayla Aguiar Palma, Joana Balardin, Gustavo Vedana, Manoel Garcia Junior, Irani Argimoni, Nadja Schroder, Elke Bromberg. Nervous System Biology and Development Laboratory, Pontificia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Brazil.

Caring for the chronically ill is associated with chronic distress. The purpose of the present study was to analyze the CRT secretion and declarative memory in elderly caregivers of dementia patients. Six elderly caregivers of dementia patients and thirteen elderly controls (non-caregivers), ages 66-82, were adjusted for scores on the Vocabulary subtest of WAIS-R. Exclusion criteria consisted of depression indicative scores in Global Depression Scale, dementia in Mini Mental Examination State, visual and/or auditory deficits and previous or current use of medication that affects nervous system function. Their declarative memory was tested using a short story, composed by 11 slides with a narration. In training phase, participants viewed and heard the story. After 24 hours, the subjects were asked to do a free recall of the story. Salivary levels of CRT were collected at training day, in 3 times (8am, 4pm, 10pm), and assayed by radioimmunoassay. Comparison of data among groups was done using independent samples t-test and pared samples t-test, if necessary. We used a *p* value of 0.05 as indicative of statistical significance. The results are presented as mean/SE. Although there were no significant differences between CRT levels of the experimental groups at the time points analyzed, the controls CRT secretion exhibited the expected 24-h circadian profile, decreasing significantly from 8pm to 10pm (19,3±4,39; 10,5±3,32; 6,32±3,23). However, the caregivers CRT levels were not significantly different between 4 pm (9,04,3±2,63) and 10 pm (8,58,3±3,28). Besides, caregivers scored significantly lower (23,14±9,4) on the free recall task relative to controls (39,1±17,1). These preliminary findings suggest that elderly caregivers of dementia patients have alterations of the circadian CRT secretion, which could be related to their memory deficits.

POS 06-34

Efecto del sistema eferente sobre la actividad eléctrica de las aferentes vestibulares del axolotl. Hortencia Chávez[1], Javier Vega[1], Rosario Vega[2] y Enrique Soto[2]. [1]Lab. de Fisiología, Facultad de Estomatología, [2] Instituto de Fisiología, Universidad Autónoma de Puebla, México.

Existe controversia acerca de la influencia de la activación eferente sobre la descarga aferente en el sistema vestibular. Se han reportado efectos excitatorios, inhibitorios y mixtos. A fin de contribuir a resolver la función del sistema eferente vestibular, realizamos registros extracelulares multiunitarios en el oído aislado del axolotl (*Ambystoma tigrinum).* La acetilcolina (10 µM a 1 mM), después de la perfusión previa de eserina 10 µM (inhibidor de la acetilcolinesterasa) produjo un efecto excitador dependiente de la concentración que a 100 µM fue del 190 ± 20 %, n = 5. El carbacol, agonista colinérgico inespecífico no hidrolizable, a concentración 200 µM produjo una excitación de larga duración de la descarga basal de un 152 ± 7 %; n = 4. Este efecto excitatorio se reduce no significativamente por el antagonista nicotínico d-tubocurarina 10 µM, n = 4, pero es completamente antagonizado por atropina 10 µM; n = 3. La perfusión del agonista nicotínico 1-dimethyl-4-phenyl-

piperazinium (DMPP), 10 μM, n = 5; 100 μM, n = 5; 1 mM, n = 4 no tuvo efecto significativo en la frecuencia de descarga de las aferentes de los canales semicirculares. La perfusión del agonista muscarínico oxotremorina-M 100 μM produjo un efecto excitatorio significativo en un 189 ± 22 %, n = 7 sobre la descarga basal de las aferentes vestibulares**.** Nuestros resultados indican que el sistema eferente ejerce una influencia excitatoria sobre la descarga de las neuronas aferentes vestibulares mediada predominantemente por receptores colinérgicos tipo muscarínico.

POS 06-35

Metabolism of aminoacids neurotransmitters induced by MK-801, an antagonist of NMDA receptors in corticolimbic áreas of the rat brain: a potential mechanism of cortical dysfunction in Alzheimer´s disease. Darwin Da Costa, Patrícia Alamo, Carlos Ayala Grosso. Unidad de Bioquímica, Departmaneto de Microbiologia Aplicada, Facultad de Farmácia, Universidad Central de Venezuela, Nueva Granada, apartado Postal 40109, Caracas, Venezuela.

Antagonists of the N-methyl-aspartate (NMDA) subtype of glutamate receptor induce neuronal degeneration confined to pyramidal neurons of rat corticolimbic brain areas. Previous findings have shown that NMDA receptor hypofunction and hyperactive muscarinic receptors produce a pattern of neuronal degeneration that resembles neurofibrillary pathology in AD. The objective of this study is to determine the role of aminoacids neurotrasnsmitters in the neuronal degeneration induced by MK-801 and pilocarpine administration. Using HPLC with fluorescence detector, we determined a significant accumulation of glutamic acid, glutamine and γ-amino butytric acid (GABA) but not aspartic, serine, threonin and taurine in the pririfom cortex and amygdala of MK-801 (2.5 and 5.0 mg/Kg (i.p.) plus pilocarpine (10 mg/kg (s.c)) treated female SD rats relative to weight and age-matched saline treated controls at day 4 after drugs treatment. These findings suggest that NMDA receptor hypofunction induces a feed forward loop of a sustained disinhibition of excitatory pathways as a result of inactivation of inhibitory neurons that results in a prolonged hyperstimulation of corticolimbic neurons that may involve changes in the metabolism of aminoacids neurotrasnmitters.

POS 06-36

Efeitos da micro-injeção de antagonista AMPA no Núcleo Accumbens (NAcc) sobre o nível de ansiedade em ratos Wistar fêmeas. Isabel Cristina da Cunha, Ana Paula Fraga Lopes, Adriana Ferraz, Juliano Córdova Vargas, Aparecida Marcelino de Nazareth, Fábio Rodrigo Mesquita Borges, Luana Meneghini, José Marino Neto, Moacir Serralvo Faria, Marta Aparecida Paschoalini Depto de CFS/CCB/UFSC, Florianópolis, Brasil.

No NAcc, o glutamato é um importante neurotransmissor envolvido na modulação da ingestão de alimento e do nível de ansiedade O presente estudo teve como objetivo investigar o papel dos receptores glutamatérgicos do tipo AMPA, na região central (core) e na concha (shell) do NAcc, em relação à modulação da ansiedade. Foram utilizadas fêmeas da linhagem Wistar (200-300g) portando cânulas-guia implantadas bilateralmente 2 mm acima da região do core ou do shell do NAcc, e mantidas com água e ração *ad libitum*. Os animais receberam microinjeções bilaterais de DNQX (antagonista competitivo dos receptores glutamatérgicos do tipo AMPA/Kainato, 2,6 nmol) ou DMSO 50% (400 nl) no core ou no shell do NAcc (N= variou entre 4 e 6 animais) e foram expostos ao labirinto em cruz elevado (LCE) por 5 min. Os resultados mostraram que a microinjeção de DNQX no shell do NAcc aumentou a porcentagem do número de entradas (54.8±4.3) e do tempo de permanência (45.1±5.9) dos animais nos braços abertos do LCE, em comparação com os efeitos induzidos por esse mesmo tratamento no core do NAcc (26.6±4.2 e 14.7±2.3, respectivamente). A microinjeção de DNQX no shell do NAcc não alterou a atividade locomotora dos animais em relação ao mesmo tratamento na região do core do NAcc, visto que o número de entradas nos braços fechados permaneceu o mesmo em ambas as regiões (core, 9.5±1.5 e shell, 6.75±2.1). Esses dados indicam a presença de uma influência glutamatérgica inibitória tônica induzindo ansiedade no LCE, mediada pela ativação de receptores do tipo AMPA/kainato presentes no shell do NAcc

POS 06-37

Efeito da lesão nervosa periférica sobre a concentração de glutationa total em medula espinal de ratos. Renata P.Guedes, Lidiane Dal Bosco, Camila M. Teixeira, Maria Helena Jacob, Alex Sander Araújo, Maria Flávia Marques Ribeiro, Suzana Llesuy, Adriane Belló-Klein, Wania A. Partata, Departamento de Fisiologia, UFRGS, Brasil.

Existe uma grande diversidade de moléculas envolvidas com os mecanismos nociceptivos, dentre as quais destacam-se os antioxidantes. A glutationa (GSH) é um dos principais antioxidantes celulares, especialmente no sistema nervoso. Sua presença na medula espinal pode minimizar os danos produzidos por espécies ativas de oxigênio após uma lesão nervosa periférica, procedimento utilizado para o estudo da dor neuropática. Assim, o objetivo deste trabalho foi determinar a concentração de GSH total em medula espinal de ratos submetidos à secção do nervo ciático. Para isso, foram utilizados ratos *Wistar* machos, divididos em três grupos: denervado, onde os animais sofreram secção do nervo ciático; *sham*, no qual o nervo foi exposto, mas não foi seccionado; e controle, cujo nervo não sofreu qualquer manipulação. Estes animais foram sacrificados 1, 3 e 7 dias após a lesão (n=5 para cada grupo). A GSH total foi determinada pelo método descrito por Akerboom & Sies (1981) e os valores são expressos em nmol/g de proteína. Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA de uma via seguido de Student-Newman-

Keuls. A concentração de GSH total no grupo controle foi de 1,10±0,05. Não houve diferença significante nos períodos de 1 (sham 1,06±0,09; denervado 1,17±0,13) e 7 (sham 1,27±0,17; denervado 1,29±0,18) dias após a lesão. Porém 3 dias após a secção do nervo ciático houve uma redução significativa na concentração de GSH total (sham 0,55±0,05; denervado 0,53±0,07). Os resultados indicam que a indução de dor neuropática interfere na concentração de GSH total dos neurônios espinais, o que pode torná-los mais suscetíveis ao estresse oxidativo. Porém, estudos adicionais sobre a glutationa estão sendo realizados. (FAPERGS, CNPq, CNPq-PIBIC, BIC).

POS 06-38

Microinjeção de muscimol (MUSC) e baclofen (BAC) na região da concha do núcleo accumbens (ACC) induz hiperfagia e efeito ansiolítico em ratos. Ana Paula Fraga Lopes, Isabel Crisitna Cunha, Juliano Córdova Vargas, Adriana Ferraz, Rodrigo José Knabben, José Marino Neto, Moacir Serralvo Faria, Marta Aparecida Paschoalini, CFS, CCB, UFSC - SC

Dados da literatura apontam a participação de circuitos gabaérgicos do ACC no controle da ingestão de alimento e na modulação da ansiedade em ratos. O objetivo do presente estudo foi estabelecer uma associação entre hiperfagia e efeito ansiolítico após a ativação de receptores $GABA_A$ e $GABA_B$ encontrados na região da concha do Acc. Foram utilizados ratos Wistar fêmeas (200-300g), portando cânulas-guia implantadas bilateralmente 2 mm acima da região da concha do Acc, mantidas com água e ração *ad libitum*. Os animais foram tratados, bilateralmente, com salina (200 nl) e 128 e 356 pmol de MUSC (agonista $GABA_A$) ou BAC (agonista $GABA_B$) e expostos ao labirinto em cruz elevado (LCE) por 5 min. Imediatamente após esse período, os animais foram transferidos para uma caixa de observação para avaliação, por 1 h, do consumo de água e alimento. Os resultados mostraram que, em relação ao veículo (0,1±0,1 g), as duas doses de MUSC induziram elevação semelhante na ingestão de alimento (2,2±0,6 g; 2,7±0,4 g), acompanhada por uma redução na latência para iniciar, sem alterar a duração, da resposta de ingestão de alimento. Ambas as doses de BAC provocaram hiperfagia (2,6±0,5 g; 5,0±0,4 g) de modo dose-dependente, acompanhada por redução na latência para iniciar e aumento na duração da resposta de ingestão de alimento. Ambas as doses de BAC reduziram a avaliação de risco, enquanto esse efeito apenas pode ser observado com a menor dose de MUSC. Esses dados sugerem que a hiperfagia induzida pela ativação de receptores $GABA_B$ do Acc poderia estar associada ao efeito ansiolítico mediado por esses receptores. No entanto, os receptores $GABA_A$ parecem regular a ingestão de alimento independentemente de modificações no comportamento de ansiedade.

POS 06-39

Effect of eletroconvulsive shock on Na^+, K^+-ATPase activity in hippocampus of rats. Emilio L. Streck, Renata Franzon, Gustavo Feier, Felipe Dal Pizzol, João Quevedo, Angela T.S. Wyse.Laboratório de Bioquímica Experimental, UNESC - Laboratório de Fisiopatologia Experimental, UNESC-Departamento de Bioquímica, UFRGS.

Electroconvulsive therapy (ECT) is the most effective treatment for refractary depression. Although several advances have occurred over the past 20 years concerning the use and administration of ECT in order to minimize side effects of this treatment, little progress has been made in understanding the mechanisms underlying its therapeutic or adverse effects. Animal model of ECT have contributed to explain the therapeutic and side effects of ECT. In this work, our objective was to investigate Na^{++},K^{++}-ATPase activity in hippocampus of rats subjected to acute and chronic ECS. For acute model, 60-day-old rats received a single ECS. In chronic treatment, animals received eight ECS every other day. ECS was applied via bilateral ear clip electrodes. Sham groups (acute and chronic) were handled identically to the ECS-treated rats except no current was passed. Animals were sacrificed at different times after last ECS: immediately, 48 h, 7, 30, 60 and 90 days. Synaptic plasma membranes were used to determine Na^+,K^+-ATPase activity. Results showed acute ECS significantly inhibited Na^+,K^+-ATPase activity at all times studied. Besides, in chronic ECS, this enzyme was activated immediately after last ECS and inhibited at 7 days later. Our findings demonstrated that ECS altered Na^+,K^+-ATPase activity in hippocampus of rats. These results may help us to understand neurochemical effects of ECT. Supported by: CNPq/Brazil.

POS 06-40

La corteza orbitofrontal de la rata macho: su participación en la motivación incentiva y aprendizaje de inversión en una tarea con incentivo sexual. Miguel Angel Guevara, Francisco Abelardo Robles, Gina Lorena Quirarte*, Marisela Hernández-González, Inst. de Neurociencias, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco. *Inst. de Neurobiología, UNAM-UAQ. México.

En el cerebro de los mamíferos se ha reconocido la importancia que tiene el circuito mesolímbico en los aspectos motivo-emocionales del organismo. Dentro de éste existen estructuras encargadas de codificar aquella información que tiene relevancia para la obtención de un refuerzo, es decir, información sobre el valor incentivo de un estímulo. En el contexto de la conducta sexual, la potencial pareja constituye un importante estímulo incentivo, y la corteza prefrontal, junto con sus conexiones recíprocas con la amígdala y otras estructuras límbicas, se ha mostrado que juega un papel importante en el procesamiento de la estimulación incentiva, así como en el aprendizaje y asociación de los estímulos dentro de una tarea de discriminación. Con el fin de investigar si la inactivación temporal de la corteza orbitofrontal (CPFo) altera la motivación incentiva y el

aprendizaje de inversión de una tarea sexualmente motivada, en este estudio se implantaron bilateralmente en la CPFo 36 ratas macho divididas en: un grupo control (0.5 µl de sol. salina), un grupo TTX1 (con 5 ng. de Tetrodotoxina/0.5 µl) y otro TTX2 (con 2.5 ng. de TTX/0.5 µl). Media hora después de la infusión cada macho fue sometido a 7 ensayos para aprendizaje de la tarea, en la cual debía elegir entre una hembra receptiva y otra no receptiva colocadas en cada brazo de un laberinto "T". Posteriormente se sometieron a 7 ensayos de aprendizaje de inversión, en la cual las hembras se cambiaron de brazo. La actividad motora no fue alterada en ninguno de los tres grupos ($p>0.05$). Sólo los sujetos del grupo TTX2 mostraron un deterioro del aprendizaje de inversión ($p<0.05$) y una mayor ausencia de respuestas respecto al grupo control y al TTX1. Estos datos coinciden con otros estudios que sugieren que la CPFo participa en la flexibilidad de la respuesta y la utilización del valor incentivo para mejorar el desempeño en una tarea y parecen consistentes con la posibilidad de que la CPFo contribuya a la asignación de dicho valor incentivo, jugando así un papel importante en la motivación sexual.

POS 06-41

Modulación de la actividad del transportador neuronal de noradrenalina (NAT) por las Endotelinas (ET) en el hipotálamo. Sandra Hope; Josefina Schmipp; Gabriela Otero; Guadalupe Perfume; Liliana Bianciotti; Marcelo Vatta. Cátedras de Fisiología (IQUIMEFA-CONICET) y Fisiopatología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. Argentina.

En estudios previos demostramos que la ET3 aumentaba la captación neuronal de noradrenalina (NA) en hipotálamo anterior (HA) mientras la disminuía en el posterior (HP). La ET1 disminuía la captación de NA en ambas regiones hipotalámicas. Éstos efectos involucran diferentes receptores y vías intracelulares lo que sugiere una regulación compleja. En el presente trabajo estudiamos los efectos de ambas ETs sobre la cinética y procesos de internalización de la NAT. También se estudió la curva en función del tiempo del proceso de captación neuronal de NA. Los experimentos se realizaron en el HA y el HP de ratas Sprague Dawley. Los resultados se analizaron mediante el ANOVA y test de SNK. Los resultados muestran que la ET1 disminuye la velocidad máxima (Vmax) de la NAT y Bmax del binding de Nisoxetina sin modificar en ambos casos la Kd. Además, la disminución de la captación neuronal de NA fue significativa durante los tiempos estudiados (de 5´ a 60´). La ET3 en el HA aumenta la Vmax y la Bmax y en HP disminuyó ambos parámetros sin modificar la Kd . Los estudios de la captación neuronal de NA en función del tiempo muestran que en el HA la ET3 la incrementa y en el HP la disminuye. Podemos concluir que la ET3 en HA aumenta la expresión de la NAT en la membrana plasmática, y la disminuye en HP, en tanto que la ET1, en ambas regiones hipotalámicas incrementan la internalización del transportador disminuyendo la expresión en la membrana plasmática. Estos resultados justifican los efectos de ambas ETs sobre la captación neuronal de NA en el HA y HP de rata.

POS 06-42

Effects of endurance and resistance training on the locomotion of rats after sciatic nerve crush (sc). Jocemar Ilha, Rafaela Araujo, Tais Malysz, Leonardo Peyré-Tartaruga, Matilde Achaval. PPG Neurociências, Lab. Histofisiologia Comparada, Lab. de Pesquisa do Exercício, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil.

The aim of the study was to evaluate the effect of resistance and endurance training on the recovery of locomotion of rats after SC using the sciatic functional index (SFI). 29 adult male Wistar rats were divided into control rats (CON, n=8), sedentary rats (SED, n=7), endurance-trained rats (ET, n=7) and resistance-trained rats (RT, n=7). The SED, ET and RT groups were anesthetized and the right sciatic nerves were crushed with 1mm hemostatic forceps for 30s. 2 weeks after the SC, the physical training (PT) of the ET and RT groups was initiated. The SFI was monitored 1 day before PT and during 5 weeks of PT. The SFI is based on the analysis of footprints from the hind feet of the animal walking along a corridor. An SFI about 0 is normal and about -100 indicates total impairment. A one-way ANOVA with repeated measures followed by the LSD *post-hoc* test ($p<0.05$). 1 day before PT, the SFI was -4.98±2.61 in CON, -95.64±5.07 in SED, -100.64±4.23 in ET and -97.15±2.89 in RT groups. Statistical difference was found between the CON group and the SED, ET and RT groups ($p<0.001$). After 1 week of PT, the SFI was -5.61±0.91 in CON, -19.57±8.4 in SED, -7.12±2.06 in ET and -33.4±4.8 in RT groups. After this period, no significant difference was found in the SFI of the ET and SED groups when compared with CON ($p>0.05$), however the ET showed better SFI than SED. Furthermore, after 1, 2 and 3 weeks of PT, the SFI of the RT group (-97.15±2.89, -24.24±3.8 and -21.18±3.39) was significantly lower ($p<0.01$) than CON (-5.61±0.91, -3.8±1.09 and -8.7±1.51) and ET (-7.12±2.06, -10.28±1.54 and -10.15±2.67). After the 3rd week of PT no significant statistical differences were found between the 4 groups ($p>0.05$). These results suggest that ET enhances motor function return after the first week of PT, and that RT delayed locomotion recovery in rats after SC. However, after 3 weeks of PT both groups showed similar motor function to the CON group. *This work was supported by CNPq and CAPES*.

POS 06-43

Denditic spine density of neurons from the posterodorsal medial amygdala (MePD) in distinct experimental conditions: effects of restraint stress, enriched environment and aging. Simone Marcuzzo; Maria Flávia M. Ribeiro; Matilde Achaval; Alberto Rasia-Filho; PPG Neurociências, Depto de Ciências Morfológicas, PPG Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Rio Grande

do Sul, Depto Ciências Fisiológicas, Fundação Faculdade Federal de Ciências Médicas, Porto Alegre, Brazil.

The MePD modulates social behaviors and neuroendocrine responses in rats. The aims of this study were to evaluate the effects of restraint stress (during 1 h, 6 h or 6 h along 28 days), rearing in an enriched environment (during 3 weeks) or aging (24 months old) on the dendritic spine density of neurons from the MePD of adult male Wistar rats. Control group consisted of nonmanipulated rats (3 months old). After each experimental procedure, brains were submitted to the single-section Golgi method. Dendritic spines were drawn and counted along the 40 μm initial segments (8 dendrites per animal; n = 6 in each group). Data were compared by the one way ANOVA and the Tukey *post hoc* test (significant level $p < 0.05$). Rats submitted to 1 h of restraint stress presented a significant statistically decrease in the dendritic spine density compared to control (mean ± S.E.M., 1.94 ± 0.08 and 2.95 ± 0.16; respectively; $p < 0.01$). The groups 6 h of restraint stress during 1 day or along 28 days (2.52 ± 0.11 and 3.07 ± 0.03; respectively) showed no statistically significant differences compared to control ($p > 0.05$). Rats submitted to the enriched environment showed a statistically significant decrease in dendritic spine density compared with the control (2.39 ± 0.12 and 2.95 ± 0.16; respectively; $p< 0.05$). Old rats showed no statistically significant differences in the dendritic spine density compared to the 3-months group (2.55 ± 0.16 and 2.95 ± 0.16; respectively; $p > 0.05$). These results indicate that distinct experimental conditions can affect the dendritic spine density in the MePD neurons of male rats, which demonstrate an intrinsic plastic condition that can be relevant for behavioral adaptative responses. *This work was supported by CNPq and CAPES*.

POS 06-44

Strategies to revert againg-induced recognition memory deficits Maria N. M. de Lima[1,2]; Caroline P. Dias[1,2]; Juliana P. Torres[1,3]; Arethuza Dornelles[1,3]; Vanessa A. Garcia[1]; Felipe S. Scalco[1]; Marcelo R. Guimarães[1]; Roberta Petry[1]; Elke Bromberg[1,2]; Nadja Schröder[1,2,3]. [1]Neurobiology and Developmental Biology Laboratory, Faculty of Biosciences, Pontifical Catholic University; [2]Graduate Program in Biomedical Gerontology, Institute of Geriatrics and Gerontology, São Lucas Hospital, Pontifical Catholic University; [3]Graduate Program in Cellular and Molecular Biology, Faculty of Biosciences, Pontifical Catholic University - Porto Alegre, RS, Brazil.

There are evidences that excessive iron in selective regions of the brain may generate cytotoxic free radical formation, thereby possessing implications for the etiology of neurodegenerative disorders. Increased levels of iron have been reported in several neurodegenerative disorders, such as Parkinson's and Alzheimer's diseases, as well as in normal brain aging. Previous studies have demonstrated that aged rats presented recognition memory deficits. The aim of the present study was to evaluate the effect of deferroxamine (DES), an iron chelator agent, on aging-induced memory deficits. Male Wistar rats (23 months old) received 6 injections (with 24h of interval between each one) of saline or DES (300.0mg/kg) i.p. The animals were submitted to a novel object recognition task 24h and 1 week after the last injection. A recognition index, expressed by the ratio $T_N/(T_F+T_N)$ (T_F=time spent exploring the familiar object; T_N=time spent exploring the novel object), was calculated for each animal. DES-treated rats showed normal recognition memory while the saline group showed long-term recognition memory deficits. One week after the last injection, DES-treated rats showed long-term recognition memory deficits similar to those seen in saline group. The results show that DES is able to reverts aging-induced recognition memory deficits in a time-dependent form. Since DES is known for its iron-chelating properties, the present findings are in agreement with the hypothesis that, at least in part, aging-induced cognitive deficits are related to oxidative damage.

POS 06-45

Functional assessment of early postnatal sensorimotor restriction (SMR) in rats. Simone Marcuzzo, Jocemar Ilha, Patrícia S. do Nascimento, Lisiane Osório, Pedro Kalil-Gaspar, Rafaela Araujo, Matilde Achaval. PPG Neurociências, Depto. de Ciências Morfológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. *This work was supported by CNPq and CAPES.*

The aim of this study was to investigate the effects of early postnatal SMR on rat motor performance. Pups had their hindlimbs restricted in extended position from P2 to P28 for 16h/day (sensorimotor restricted group; SR); control group (CG) consisted of non-manipulated pups (n=6). Weight, motor skills and gait were evaluated during 3 weeks after SMR. Functional testing consisted in walking on a grid runway (GR; 1.5 cm in diameter fencing holes) and in footprint analysis (FA; inky hindpaws´ footprints on a 100 cm wide paper-covered runway). Number of errors when crossing the GR was compared. FA was based on stride length and support base. Gait was videotaped and qualitatively observed by two examiners. Data were compared by one way ANOVA and LSD *post hoc* (significant level $p<0.05$). SR showed slower growth rate (23%, 13%, 14%) than CG in the 3 weeks, respectively. In the GR, the SR errors (mean±s.e.m.; 2.09±0.15; 2.05±0.34; 0.77±0.14) were greater than CG (0.41±0.16; 0.55±0.16; 0.16±0.11; respectively for 1st, 2nd and 3rd week). Statistical difference was found between CG and SR in the 1st and 2nd weeks ($p<0.001$). In the FA, the SR stride length means (8.08±0.21; 10.80±0.23) were lower than CG (9.90±0.44; 11.79±0.03) in the 1st and 3rd week respectively. Statistical difference was found between CG and SR in the 1st ($p<0.001$) and 3rd ($p<0.05$) weeks. At 2nd week stride length mean in SR was greater than

CG (11.05±0.16 and 10.07±0.27 respectively; $p<0.05$). Support base measurement only showed statistical difference between CG and SR at 2nd week (3.65±0.12 and 3.15±0.1 respectively; $p<0.05$). In restricted animals gait analysis showed abnormal features, including reduced knee/ankle joint movements, elevated hindquarters, and compensatory caudal vertebral column flexion. These results suggest that, despite early SMR impairments in weight gain and motor performances, abnormal pattern diminished during 3-week experimental observations, not reaching control values yet.

POS 06-46

Endurance training enhances the sciatic nerve regeneration in rats. Jocemar Ilha, Rafaela Araujo, Tais Malysz, Paula Rigon, Erica Hermel, Léder Xavier, Matilde Achaval. PPG Neurociências, Depto. Ciências Morfológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; Depto. Ciências Morfofisiológicas, PUCRS, Brazil.

The aim of the study was to evaluate the effect of endurance training on the regeneration of rat sciatic nerve after crush. Twelve adult male Wistar rats were divided into control (CON, *n*=4), sedentary (SED, *n*=4) and endurance-trained (ET, *n*=4) groups. The SED and ET groups were anaesthetized and the right sciatic nerves were crushed for 30s. Two weeks after the lesion, the endurance training was initiated in ET group. After 5 weeks of physical training the distal stump of right sciatic nerves were removed, embedded in resin and semithin sections (1 μm) were obtained. Thereafter, the sections were stained with 1% toluidine blue. The estimation of number of fibers per area, fibre density (FD), area of fiber (AF), thickness of myelin sheath (TMS), total fiber (FA) and connective tissue areas (CA) of distal stump of the injured nerve were obtained using the Image Pro Plus Software 4.1. Data were compared by a one-way ANOVA followed of LSD *post hoc* test ($p<0.05$). The total area analyzed in each nerve was 4082.4 μm^2. No significant statistical difference ($p>0.05$) was found between FD of the CON (mean ± S.E.M., 15.35±1.48/μm^2), ET and SED (22.00±4.23/μm^2 and 19.87±1.14/μm^2, respectively). The AF of the CON (45.32±7.03 μm^2) was significantly higher than ET and SED (17.66±2.23 μm^2 and 11.47±2.09 μm^2, respectively, $p<0.01$). The CON and ET showed thicker TMS than SED (1.08±0.07 μm, 0.72±0.09 μm and 0.47±0.02 μm, respectively, $p<0.05$). The SED showed smaller FA than CON and ET (921.78±136.99 μm^2, 2717.55±192.82 μm^2 and 1480.68±160.57 μm^2, respectively, $p<0.05$). The CA was significantly higher in SED (3158.22±136.99 μm^2) than CON and ET (1362.45±192.82 μm^2 and 2599.32±160.57 μm^2, $p<0.05$). These results suggest that 5 weeks of endurance training enhances the sciatic nerve regeneration in rats after the crush lesion. *This work was supported by CNPq and CAPES*.

POS 06-47

Evidencia voltamperométrica de metabolitos oxidados de dopamina en plasma, en un modelo experimental de neurodegeneración por inhalación de ozono. Santiago-Lopez, Darío*; Bautista-Martínez, José A.**; Reyes-Hernández, Carmen**; Escamilla-Jiménez, Cristopher*; Aguilar-Martínez M.**; Rivas-Arancibia, Selva* *Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM; ** Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Química, UNAM.

El estrés oxidativo (EO) desempeña un papel importante en muchas enfermedades neurodegeneratívas, como la enfermedad de Parkinson (PD). La exposición crónica a ozono (O_3) a dosis bajas es un modelo no invasivo de EO y degeneración neuronal progresiva, de una manera semejante al PD. Por otro lado, la pérdida del balance de rédox, produce un aumento en la oxidación de metabolitos de la dopamina (DA), que pueden llevar a la formación de quinonas de DA ($DAQ^{\cdot}$), y otros residuos oxidados, mismos que pueden inhibir la función de muchas proteínas. Sin embargo el mecanismo involucrado en la producción de quinonas y su contribución al daño celular no está claro aún. Con el propósito de establecer la participación del EO crónico y la relación que guarda con la formación de $DAQ^{\cdot}$ durante el daño dopaminérgico, este estudio evalúa la oxidación de DA, ocasionada por la inhalación de O_3, empleando la técnica de voltamperometría cíclica (CV). 36 ratas machos Wistar fueron divididas en 3 grupos (n= 6 c/grupo), cada grupo recibió, uno de los siguientes tratamientos: control (libres de O_3), ratas expuestas a O_3 por 15, 30 días (grupos 2, 3, a dosis de 0.25ppm, 4 h diarias). Después de la última exposición a O_3, los animales fueron sacrificados y se obtuvieron 1,5mL de plasma para el estudio por CV. Los resultados muestran una oxidación progresiva de DA a causa del incremento a la exposición a O_3, de una manera que se correlaciona al aumento de la peroxidación de lípidos plasmáticos. Lo que indica que existe una relación entre la formación de $DAQ^{\cdot}$, EO y el estado de neurodegeneración. Financiado por DGAPA # IN220405 a SR-A y CONACyT 40702-Q, otorgado a MAM.

POS 06-48

Avaliação da peroxidação lipídica e dano ao DNA periférico em sangue e diferentes estruturas cerebrais de ratos submetidos ao modelo de demência por estreptozotocina intracerebroventricular. Letícia Rodrigues, Mariane Castro da Silva, Ana Cristina Andreazza, Letícia Carina Ribeiro, Carlos Alberto Gonçalves, Depto de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

A estreptozotocina (STZ) administrada via intracerebreventricular (ICV) em dose subdiabetogênica causa alterações bioquímicas e morfológicas semelhantes às observadas na demência do tipo Alzheimer. O estresse oxidativo tem sido associado a diversas patologias, entre elas, a Doença de Alzheimer. Desta forma, avaliamos os danos decorrentes do desequilíbrio oxidativo medindo a peroxidação lipídica

(método de TBARS) e o dano oxidativo nucléico (ensaio cometa). Ratos Wistar adultos foram anestesiados com xilazina/cetamina, operados a partir de coordenadas estereotáxicas e infundidos com 3mg/Kg de STZ diluída em 0,5 μL/lado de veículo (tratados) ou 0,5 μL/lado de veículo (controle). Após uma semana, os animais foram sacrificados. O sangue foi coletado por punção intracardíaca e foram retiradas as seguintes estruturas: hipocampo (HC), estriado (ET) e córtex temporal (CT). Os resultados demonstram um aumento da lipoperoxidação somente no HC (0,03 ± 0,009 controle; 0,06 ± 0,01 STZ; $p<0,05$), enquanto que o dano ao DNA foi significativo em todas as estruturas avaliadas e em sangue total ($p<0,05$). Este estudo confirma uma maior suscetibilidade do HC ao dano oxidativo, que serve de base para explicar o déficit cognitivo observado nestes animais. O ensaio do cometa, pela primeira vez utilizado no modelo de demência com STZ, sugere, no entanto, um dano mais amplo no SNC e talvez mais duradouro. Apoio financeiro: CAPES, CNPq, Pronex - FAPERGS.

POS 06-49

Flutriafol promove aumento de Dopamina extracelular *in vivo* no Núcleo Estriado de Ratos. Maxwell Santana, Klebson Rodrigues, Lucia Adán, Miguel Alfonso, Rafael Durán, Lilian Faro, Lab. Neurotoxicologia, Depto. de Fisiología, Centro de Ciências Biológicas Universidade Federal do Pará, Brasil e Lab Neuroquímica Departamento de Biologia Funcional y Ciencias de la salud,Universidad de Vigo, Espanha.

O fungicida triazol Triadimefon é classicamente descrito por provocar alterações comportamentais em roedores, sendo estes efeitos associados a alterações na transmissão dopaminérgica no SNC. Contudo, a utilização do fungicida Flutriafol (FLU) vem crescendo nos últimos anos, como um eficiente substitutivo de outros fungicidas clássicos. O objetivo deste trabalho consiste em estudar os efeitos da administração do fungicida FLU no Núcleo Estriado de ratos utilizando o método de análise da liberação *in vivo* de dopamina (DA) mediante a técnica de Microdiálise Cerebral e Cromatografia Líquida de Alta Eficácia (HPLC). Foram utilizados ratos Sprague-Dawley adultos, aos quais se administrou no Núcleo Estriado diferentes concentrações de FLU (1, 6 e 12 mM), através de uma sonda de microdiálise cerebral. Os níveis de DA obtidos foram medidos por HPLC com detecção eletroquímica. A análise estatística foi feita por ANOVA e teste de Student-Newman-Keuls. As administrações de 6 e 12 mM aumentaram significativamente os níveis extracelulares de DA para 1222,7±305% e 3092,7±345%, em relação aos níveis basais, respectivamente. Quando administrou-se reserpina (10 mg/Kg i.p.) os valores de DA liberada induzidos pelo FLU 6mM foram reduzidos, mostrando que esta liberação é dependente de reserpina,. Por sua vez, a administração de Nomifensina (NOM) aumentou os níveis basais extracelulares de DA para 1087,43 ± 402,34 %. Quando a NOM foi co-administrada com FLU 6 mM os níveis de DA aumentaram para 3145,17 ± 647,42 %, em relação ao basal. Este aumento mostrou um efeito aditivo entre a NOM e o FLU, sobre a liberação de DA extracelular, evidenciando que o FLU induz um aumento na liberação vesicular de DA.

POS 06-50

Determinación electroquímica de la oxidación de la dopamina, en plasma de ratas sometidas a un modelo de daño por ozono. Reyes-Hernández, Carmen**; Santiago-Lopez, Darío*; Bautista-Martínez, José A.**; Aguilar-Martínez M.**; Rivas-Arancibia, Selva *. *Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM; ** Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Química, UNAM.

La exposición crónica a ozono (O_3) a dosis bajas es un modelo de estrés oxidativo (EO) que produce degeneración neuronal progresiva en ratas, de una manera semejante a la enfermedad de Parkinson, en la cual la dopamina (DA) es el neurotransmisor principalmente involucrado en este padecimiento. Se ha propuesto sin embargo que los metabolitos oxidados de la DA, pueden estar participando de manera importante en la muerte de neuronas dopaminérgicas. Por lo tanto, en este trabajo y debido a la necesidad de determinar las especies involucradas en la neurodegeneración, utilizamos técnicas electroanalíticas que permiten determinar la presencia y el estado rédox en el que se encuentran dichas estructuras. 16 ratas Wistar de 250 g, de las cuales 8 fueron sometidas a la inhalación de aire, (grupo control) y las restantes 8 a exposición de 0,25 ppm de O_3, 4 h diarias, durante 2 meses (grupo experimental). Se obtuvo 1,5mL de plasma por c/u para su estudio mediante voltamperometría cíclica. Los grupos control muestran gráficas donde no se aprecian señales importantes en la zona catódica (donde aparece la DA oxidada y sus metabolitos), por otro lado, en la zona anódica se observa una onda (Ia) en el intervalo de 120-310 mV (zona de DA reducida). Sin embargo, en la gráfica correspondiente a 60 días de exposición a O_3 se observa una onda (Ic) en el intervalo entre -817 a -847 mV, correlacionado al estado de oxidación de la DA. La adición de estándares, muestra que las especies que presentan un proceso de reducción dentro del intervalo de Ic, corresponden a la presencia de DA y sus metabolitos oxidados. Todos los potenciales están referidos al electrodo normal de hidrógeno. Proyecto financiado por CONACyT 40702-Q, otorgado a MAM y DGAPA # IN220405 a S.R-A.

POS 06-51

Adrenergic modulation of object recognition memory consolidation. Nadja Schroder, Arethuza Dornelles, Manoela Grazziotin, Maria Noêmia Matins de Lima, Rafael Roesler, Lab. Biologia e Desenvolvimento do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Garnde do Sul,

Brasil.

Extensive evidence from animal experiments indicates that stress hormones modulate memory storage of emotionally arousing information. Over the last decades a number of studies using aversively motivated learning tasks indicated that posttraining administration of adrenaline modulates memory consolidation. However, little is known about adrenaline influences on memory tasks that do not involve aversive/emotional content. Thus, the aim of the present study was to evaluate the effects of acute adrenaline administration on a nonaversive memory test: the novel object recognition task (NOR). In order to do that, adult male Wistar rats received intraperitoneal injections of saline (control group) or epinephrine (2,5; 25,0 and 250,0 μg/kg) immediately after NOR training. The behavioral task consisted of a training trial, where rats explored two identical copies of the same object for 2 minutes (Experiment I) or 2 distinct objects for 5 minutes (Experiments II) in an open field. In retention test trials carried out 1.5, 24 or 96 h after training, one of the familiar objects was replaced by a novel object. A recognition index calculated for each animal was expressed by the ratio T_N/T_F+T_N (T_F= time spent exploring the familiar object; T_N= time spent exploring the novel object). The results indicated that adrenaline facilitated recognition memory, as assessed by comparison of recognition indexes among groups. These findings provide evidence that, as found with emotionally arousing tasks, recognition memory consolidation requires posttraining adrenergic activity.

POS 06-52

La exposición al haloperidol durante un período crítico del desarrollo postnatal del cuerpo estriado de la rata induce cambios permanentes en la conducta. Mariano Soiza-Reilly, Julio M. Azcurra, Laboratorio de Biología Celular, Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Durante el desarrollo postnatal (PN) del cuerpo estriado de la rata existe un período crítico (PN 30-37) de plasticidad sináptica dependiente de actividad. La actividad motora circular desarrollada en el Test de Entrenamiento Circular (TEC) durante dicho período induce una reducción permanente en el estriado de 45% en la expresión de los receptores dopaminérgicos subtipo D2 y de un 35% para los receptores colinérgicos muscarínicos. En este trabajo, hemos estudiado alteraciones en la conducta motora a largo plazo inducidas por exposición al antipsicótico haloperidol (antagonista D2) en dosis de relevancia clínica. Dicha administración se realizó antes (PN 20-27), durante (PN 30-37) y después (PN 40-47) del período crítico estriatal. Para ello, ratas macho Sprague Dowley fueron tratadas entre los días PN 20-27, PN 30-37 o PN 40-47 con haloperidol (i.p. 0,7 o 2,5 mg/kg/día) o con solución fisiológica (control). Luego, en los animales adultos (PN 90) evaluamos la actividad motora mediante el TEC. Las ratas tratadas con haloperidol durante el período crítico mostraron una exacerbada respuesta motora en el TEC respecto al grupo control para ambas dosis empleadas ($p<0,01$). Por otra parte, cuando el fármaco es administrado antes o después de dicho período no se evidenciaron alteraciones motoras en el TEC. Estos resultados muestran la existencia de un período de particular susceptibilidad a los efectos ya conocidos del haloperidol durante el desarrollo postnatal de la rata con permanencia en la vida adulta.

POS 06-53

Atividade das enzimas glicogênio fosforilase e glicogênio sintase no sistema nervoso central de um caracol submetido à anoxia e à reoxigenação. Luciano S. de Fraga, Bernardo C. Detanico, Victório B. Júnior, Roselis S. M. da Silva, Denise M. Zancan, Depto. de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Univ. Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

O caracol *Megalobulimus abbreviatus* é um gastrópode pulmonado tolerante à anoxia. Em períodos de seca, o animal entra em estivação, reduzindo o consumo de oxigênio. O metabolismo dos gastrópodes terrestres baseia-se na utilização de carboidratos e este substrato assume um papel importante durante o período de estivação. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da anaerobiose e da reoxigenação sobre a atividade das enzimas glicogênio sintase e glicogênio fosforilase no sistema nervoso central (SNC) de *M. abbreviatus*. Os animais foram submetidos à anoxia (0% de oxigênio) por 3h ou 12h. O grupo reoxigenação, previamente exposto ao período de 3h de anoxia, foi recolocado por 15h em condições aeróbias. Um grupo controle foi mantido sempre em condições aeróbias. Após os períodos experimentais, os animais foram crioanestesiados para a retirada do SNC. A enzima glicogênio fosforilase foi dosada nas formas ativa (GFA) e total (GFT) e a glicogênio sintase nas formas independente de glicose-6-fosfato (GSI) e total (GST). Após 3h de anoxia houve uma redução significativa de 77% na atividade GSI e de 66% na atividade GST. O período de 12h de anoxia provocou uma redução de 44% na atividade GFA, 83% na atividade GSI e 33% na atividade GST (Teste T de Student, $p<0,05$). Após a reoxigenação, a atividade das duas enzimas não apresentou diferença em relação ao grupo controle. A redução da atividade enzimática durante a anoxia pode indicar uma depressão metabólica cerebral em períodos prolongados de anaerobiose. Por outro lado, não pode ser descartada a hipótese de que a demanda metabólica do SNC, durante o período, esteja sendo suprida pela glicose hemolinfática, que se encontra elevada durante a anoxia. (CNPq, CAPES)

POS 06-54

Efecto de la administración de octopamina sobre la actividad eléctrica del ganglio cerebriode de acociles dominantes y subordinados.. Elizabeth Guarneros-Bañuelos, Adriana Erika Acosta, Departamento de Fisiología, Escuela

Nacional de Ciencias Biologicas, IPN, México.
El registro crónico de la actividad eléctrica del ganglio cerebroide en acociles que pueden moverse libremente en un acuario, permite caracterizar la actividad eléctrica del más importante centro integrador (ganglio cerebroide) de estos animales. Por lo tanto, se puede evaluar el efecto que tiene la administración de diferentes sustancias involucradas en la modulación de comportamientos que se integran en este centro. Los electrodos de platino se implantaron en animales anestesiados con frío, un electrodo (activo) hace contacto con la superficie ventral del ganglio cerebroide y el otro a tierra en la base anterior lateral del cefalotórax. Posteriormente se monitoreo el comportamiento agonista por seis días consecutivos durante 30 minutos para obtener al individuo dominante y al subordinado, a los que se les registró la actividad ecléctica basal, para después administrar octopamina (OA) y 10 minutos más tarde se registrara nuevamente la actividad eléctrica. En condiciones basales el registro del ganglio cerebroide muestra pocos componentes lentos y numerosas espigas de origen neural, de 0.5-2 mseg de duración y amplitud entre 8 y 20 mV. El espectro de potencia de esta señal es amplio (1-2000 Hz). El desplazamiento del animal produce actividad eléctrica muscular en forma de espigas que pueden identificarse por su duración (2-10 mseg). La administración de OA produce un incremento hasta de 2 veces y hasta de 5 veces en la amplitud de las espigas neuronales de individuos dominantes y subordinados respectivamente. El espectro de potencia cambia de amplitud sin desplazarse en el eje de frecuencia. El patrón básico de espigas probablemente debidas a la activación sincrónica de pequeños grupos de neuronas en la vecindad del electrodo de registro se modifica por la administración de OA, indicando, que la modificación del tono octopaminérgico tiene un papel importante en la integración.

POS 06-55

Neuroprotective cell therapy in Parkinson's disease: use of GDNF-secreting dopaminergic carotid body cells. Juan J. Toledo-Aral, Javier Villadiego, Simón Méndez-Ferrer and José López-Barneo. Laboratorio de Investigaciones Biomédicas, Depto. de Fisiología Médica y Biofísica, Hospital Univ. Virgen del Rocío, Univ. de Sevilla, Sevilla, Spain.
Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) produces a notable protective effect on dopaminergic neurons in rodent and primate models of Parkinson's disease (PD). The clinical applicability of this therapy is, however, hampered by the need of a durable and stable GDNF source, allowing the safe and continuous delivery of the trophic factor into the brain parenchyma. Intrastriatal carotid body (CB) grafting induces long-term recovery of parkinsonian animals, not only by the release of dopamine, but also through a trophic effect on nigrostriatal neurons. In fact, the adult rodent CB expresses GDNF. Among the neural or paraneural cells (CB, adrenal medulla, superior cervical ganglion, Zuckerland´s organ and PC12) tested, CB dopaminergic glomus, or type I, cells are those that synthesize and release the highest amount of GDNF in the adult rodent (as measured by standard and "in situ" ELISA assays). Moreover GDNF expression by glomus cells is maintained after intrastriatal grafting and in CBs of aged or parkinsonian MPTP-treated animals. Furthermore, in a clinical study we assessed the feasibility of autotransplantation of CB cell aggregates into the striatum of PD patients. In this pilot study some of the patients who underwent transplantation manifested a measurable degree of clinical and neurochemical improvement. This study shows that intraestriatal CB autograft is a simple, safe and viable therapeutical approach for the treatment of PD patients. Thus, glomus cells appear to be biological pumps useful for the endogenous delivery of GDNF and other trophic factors in PD and other neurodegenerative diseases.

POS 06-56

Role of MMP2 in postmitotic neuronal migration in the developing chick optic tectum. M Di Guilmi[1], V Sanchez[1], G Scicolone[1], M Rapacioli[1], V Flores[1,2]. [1]Inst Biologia Celular y Neurocien, Facultad Med UBA, Buenos Aires. [2]Interdisciplinary Group in Theorical Biolology, Favaloro University, Buenos Aires.
Matrix metalloproteinases (MMPs), a family of extracellular enzymes which participate in processing of extracellular matrix (ECM) components are involved in tissue remodeling during the SNC development. This work investigates the pattern of MMP2 activity in the developing optic tectum (OT), a cortical structure organized in alternating neuronal and fibrous laminae. OTs from different embryonic ages (E) from E8 to newly hatched chicks (NH) were used. Tissue homogenates were ultracentrifugated to separate a soluble fraction (SF) and a pellet that was resuspended in buffer containing 0.5% Triton X-100 and then ultracentrifuged to obtain a second supernatant (E1). MMP-2 activity was determinate by SDS-PAGE gelatine zimography. Tissue localization of MMP-2 was detected by immunohistochemical assay in E12. The same method was used to study the subcellular localization of this enzyme by electron microscopy. To determine the localization of MMP-2 activity in the OT, intramolecularly quenched gelatine (DQ) was used as substrate in unfixed cryostat tissue sections. We detected MMP-2 but not MMP-9 activity in the developing OT. The zimographic activity pattern exhibits a biphasic curve with a significant increase between E12 and E14 and an abrupt decrease from E16 until NH in both fractions SN ($p=0,0010$) and E1 ($p= 0,0021$). The maximal activity was observed at E12. High activity was detected in layers composed of neurons that are migrating towards their definitive location into a defined specific layer. In situ MMP2 activity mainly localizes at the ventricular zone and also in migrating neurons attached to the basal processes of the radial glial cells. These results were confirmed by electron microscopic studies. Temporo-

spatial patterns of MMP-2 expression and activity suggest that MMP2 is involved in regulating the neuronal migration during the OT lamination. Supported by grants from UBACYT and CONICET. Argentina.

POS 06-57

Activity dependent synaptic adjustment of NMDA receptor in rat striatum during postnatal development Fossati, Mariana, Hofmann-Orsetti Cynthia and Azcurra, Julio Marcos Laboratorio de Biología Celular, DBBE, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA. nana@bg.fcen.uba.ar

NMDA glutamate receptors have an established role in the regulation of motor behaviour by the basal ganglia. The present study was performed to investigate, through a circling training test (CT), the effects of motor activity on NMDA receptors in rat striatum. Recently we have shown that motor stimulation developed during cholinergic-dopaminergic striatal critical period (PN 30-37) does not alters the NMDA receptor number (Bmax of [3H] MK-801) or mRNA expression in adult animals (PN 75). If training took place, out of this period, during postnatal days 40-47 no change was observed. Due to the fact that glutamatergic fibers represent the primary cortical afference to striatum and having an activity maturation prior to cholinergic and dopaminergic fibers, in this new study, CT was performed during PN 20-27. Results show a permanent reduction of 33 % in receptor number and 40 % in mRNA levels of NR1, NR2A y NR2B subunits of such receptor. To synaptic level this effect correlates with PSD-95 protein reduction, which serves to cluster NMDA receptors at the postsynaptic membrane, and no modification of Synaptophysin (a presynaptic plasma membrane protein) in striatum of trained animals. These observations suggest an activity dependent synaptic adjustment prior to critical period of modulatory cholinergic-dopaminergic fibers evidencing the existence of multiple periods of activity dependent synaptic adjustment

POS 06-58

La Cafeína potencia el efecto antinociceptivo del Metamizol: Elucidación de los mecanismos de acción. Renato Galván Orozco, Irene Díaz-Reval, Mariana Irigoyen Anguiano. Lab. De Dolor y Analgesia, Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Colima, México.

La cafeína (CAF) es un adyuvante analgésico efectivo por lo cual ha sido adicionada a algunos fármacos analgésicos antiiflamatorios no esteroideos (AAINEs) por varios años, así mismo reduce la probabilidad de la aparición de los efectos adversos. Se ha dicho también que los AAINEs pueden actuar sobre algunos mecanismos tales como la activación de opioides endógenos, mecanismos serotoninérgicos y la vía Arg-ON-GMPc, en adición a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas. Por lo que se decidió estudiar si la CAF potencia el efecto antinociceptivo del metamizol (MET) en alguna de las 16 diferentes combinaciones realizadas (MET+CAF) para comprobar su posible potenciación y elucidar los mecanismos que participan en dicho evento, en el modelo experimental de la formalina. A partir de curvas dosis-respuesta (CDRs) de MET y de CAF se determinó la dosis de la combinación MET+CAF (100+3.16 mg/kg, respectivamente) a la cual se obtuvo la potenciación y se utilizó para analizar los mecanismos participantes en el efecto antinociceptivo de la combinación. Los mecanismos propuestos fueron opioides endógenos y la vía serotoninérgica. El mecanismo opioide endógeno se analizó con la administración de Naloxona i.p. (1mg/kg) previa a MET o a la combinación. Este tratamiento no alteró el efecto antinociceptivo del MET, sin embargo, redujo significativamente (62.8%) la potenciación observada con la combinación. La vía serotoninérgica se analizó con la administración de PCPA i.p. (100 mg/kg) previa a MET o a la combinación. Este tratamiento no altero el efecto antinociceptivo del MET, sin embargo, redujo significativamente (32.4%) la potenciación observada con la combinación. Se concluye que la CAF (3.16 mg/kg) potencia el efecto antinociceptivo del MET (100 mg/kg). Esta combinación activa por lo menos dos mecanismos adicionales a la inhibición de síntesis de PGs, siendo estos, la vía serotoninérgica y los opioides endógenos.

POS 06-59

A low brain serotonergic neurotransmission in children with type 1 diabetes detected through the intensity dependence of auditory evoked potentials. Rocio Herrera[1], Monica Leon[2], Jorge Hernandez-R[3], Gabriel Manjarrez[1]. [1]Laboratory of Developmental Neurochemistry, Specialties Hospital and [2]Service of Endocrinology, Pediatric Hospital, XXI Century, National Medical Center, Mexican Institute of Social Security. [3]Laboratory of Neurontogeny, Department of Physiology, Biophysics and Neurosciences. Center of Research and Advanced Studies IPN. Mexico City, Mexico.

Objective. To determine in children with type 1 diabetes (T1D) the plasma free fraction of L-tryptophan (FFT) and the intensity dependence of auditory evoked potentials (IDAEP), as indicators of changes in brain serotonergic neurotransmission. Research Design and Methods. A prospective and comparative study was performed in children with T1D and controls. We measured FFT, bound and total plasma L-tryptophan (L-Trp), neutral amino acids (NAA), albumin, free fatty acids (FFA), glucose, HbA_{1c} and recorded IDAEP with four intensities 40, 60, 90 and 103 dB. Results. The Glycemia, HbA_{1c}, FFA and NAA in plasma were significantly elevated. The FFT and the FFT/total L-Trp and FFT/NAA ratios were reduced. The latencies of N1 and P2 increased at all intensities and the slope of the amplitude/stimulus intensity function (ASF slope) of the N1/P2 component significantly increased. Conclusions. The decrease of the FFT in plasma and the increase the N1/P2 component amplitude may reflect a functional relationship between the brain serotonergic activity with the N1/P2 changes. The increase of the ASF slope in

children with type 1 diabetes suggest that the response of the auditory cortex to sound intensity stimulus may be regulated by the serotonergic tone, and that decreased serotonergic neurotransmission, may provoke a different behavior of sensory cortices. Therefore, the IDAEP (N1/P2 component) may be an electrophysiological indicator of brain changes of serotonergic neurotransmission in children with T1D. These changes may be related to psycho-emotional manifestations observed in diabetic children like anxiety and depression.

POS 06-60

Trígono Cerebral, estructuras anatómicas, vías de la memoria. Carla Jofre, Paula Arango, Ángel Núñez, Iris Vuyk, Victor Gaona. Cátedra de Fisiología. Facultad de Ciencias de la Salud. Carrera Medicina. Universidad del Norte. Asunción, Paraguay.

El trígono cerebral es un conjunto de fibras transversales y longitudinales que constituyen el único sistema eferente del hipocampo. Pertenece a la Vía Olfatoria, conecta formaciones rinencéfalicas, extendiéndose desde ambos hipocampos, por delante, hasta los cuerpos mamilares.Objetivo e importancia: Aprender la correlación entre el Trígono Cerebral y la función más elaborada del sistema nervioso: La Memoria. Estas conexiones son indispensables para comprender las vías que utiliza la memoria permitido el correlato anátomofisiológico entre ambas actividades.Por medio de este estudio podremos definir las asociaciones existentes entre diferentes estructuras permitiendo establecer, de manera clara, la relación existente entre una zona anatómica (el trígono cerebral) y una función fisiológica (la memoria).

POS 06-61

Participation of paraventricular and arcuate nuclei in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity (HPA) and food intake in response to endotoxemia in rats. Rodrigo C. Rorato, Carla Germano, Mauricio Benedetti, Lisandra O. Margatho, Margaret de Castro, José Antunes-Rodrigues, Lucila L. K. Elias. Laboratory of Neuroendocrinology, Department of Physiology, School of Medicine of Ribeirao Preto, USP, Ribeirao Preto, Sao Paulo, Brazil.

Paraventricular (PVN) and arcuate (ARC) nuclei are involved in the control of HPA axis activity and food intake, respectively. It has been well established that corticotrophin releasing hormone (CRH) and alfa-melanocyte stimulating hormone (alfa-MSH) are involved in the control of energy homeostasis, reducing food intake. To evaluate the role of CRH and alfa-MSH on the anoretic effect during endotoxemia, we investigated the HPA axis activity, food intake and Fos-CRH and Fos-MSH double labeling in response to LPS stimulus. Male Wistar rats, previously fasted for 16 hours, were subjected to intraperitoneal injection of lipopolysaccharide (LPS, 100μg/Kg) or saline. Food intake was determined 2, 6, 12 and 24 hours after injections. A second set of ad libitum fed rats received LPS or saline injection and was decapitated 60 and 120 minutes after for ACTH and corticosterone determination. A third set of ad libitum fed rats was transcardially perfused 4 hours after the injections for the brain collection. LPS induced a significant reduction of food intake. There was a significant increase in the plasma corticosterone and ACTH levels after 60 and 120 min after LPS administration. It was also observed an increase in the number of Fos-CRH double labeled neurons in the parvocellular PVN, with no difference in the Fos-MSH neurons in the ARC. These data indicate that the dose of LPS used in the present study induces HPA activation and a decrease of food intake. These effects are associated with an activation of CRH neurons in the parvocellular PVN, but not with ARC MSH neurons. Therefore, pathways other than MSH in the ARC nucleus are involved in the anoretic effect induced by LPS, in the present model.

POS 06-62

Efecto citoprotector de la melatonina sobre el efecto neurotóxico de los corticoides en el hipocampo de rata. Furio, Analia M; Falco, Nicolás J; Ruiz, Juan I; Fontao, Ramiro; Caccuri, Roberto; Cardinali Daniel P. Laboratorio de Neurociencias - Departamento de Fisiología - Facultad de Medicina - Universidad de Buenos Aires.

Algunas enfermedades como Depresión Mayor y Enfermedad de Alzheimer muestran una disminución en el volumen del hipocampo al mismo tiempo que un aumento en los niveles del cortisol. La dexametasona, un agonista sintético de receptores de glucocorticoides, tiene una comprobada acción neurotóxica y atrófica sobre el hipocampo. Por otro lado, la melatonina es una hormona liberada por la glándula pineal con efectos cronobióticos, citoprotectores, y antioxidantes. El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos neuroprotectores de la melatonina en ratas adultas sometidas a la administración de dexametasona. Un grupo de animales fue tratado durante 9 días con 0,5 mg/kg de dexametasona por vía subcutánea. La mitad de éste grupo recibió 25 μg/ml de melatonina en agua de bebida 10 días previos y durante el tratamiento con dexametasona. Ambos grupos fueron comparados con sus respectivos controles inyectados con solución salina. En el análisis histológico del hipocampo, los animales tratados sólo con dexametasona (n=13) mostraron un 25,65% de células anormales por campo a diferencia de aquellos tratados con dexametasona y melatonina (n=14) que tuvieron un 5,66% de células dañadas ($p< 0,001$). Se observó también una diferencia significativa ($p<0,05$) entre el porcentaje de células anormales del hipocampo izquierdo (31,44%) y el hipocampo derecho (18,69%) en las ratas tratadas con dexametasona y agua, diferencia que no se observó en los animales que recibieron dexametasona y melatonina. Concluímos que la melatonina tiene un importante efecto protector sobre las alteraciones celulares producidas por la dexametasona en el hipocampo de rata.

POS 06-63

Efecto de la procaína sobre la actividad neuromuscular y exploratoria en ratones. [1]M.J. Blanco, [1]A.V. Frontini, [1, 2]G.D. Venera .[1]Cátedra de Biofísica y Fisiología, Escuela de Medicina, Instituto Universitario Italiano de Rosario (IUNIR), U.M.C.E. (HIG), Virasoro 1249 (2000) Rosario; [2]IQUIFIB, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, CONICET, Junin 956, (1113) Ciudad Autónoma de Buenos Aires.

La procaína (PCA) -inhibidor del dibutiril AMPc y de la 3-hidroxi-3-glutaril coenzima A reductasa- se considera una droga con posibilidades terapéuticas en la enfermedad de Alzheimer y en la prevención de la hipertensión arterial. El envejecimiento y la neurodegeneración asociada con la edad se relacionan con aumento de cortisol plasmático y descenso de las funciones neuromusculares y exploratorias. En este trabajo se investigó el efecto de la PCA sobre la fuerza muscular y la capacidad exploratoria-estrés mediante los ensayos del alambre y laberinto en cruz elevado, respectivamente. Ratones Rockland macho de 7 meses se inyectaron i.p. con procaína (T) (2 mg/kg; 0,1 ml, 3 veces por semana durante 8 semanas) (n=10) o con solución fisiológica (C) (n=12). Los datos se analizaron mediante t de Student para grupos relacionados. El ensayo del laberinto en cruz mostró que los T entraron a las ramas cerradas igual número de veces que los C pero permanecieron menos tiempo (179,62 ± 91,48 s vs 260,81 ± 31,12 s; $p<0,05$) y entraron más veces a las abiertas ($p<0,05$) permaneciendo más tiempo en las mismas (120,37 ± 91,48 s vs 39,18 ± 31,12; $p< 0,05$). Los T, entraron indistintamente a las ramas sin diferencia en el tiempo de exploración, mientras que el 75 % de los C no entró a las ramas abiertas ($p<0,0001$). En el test del alambre se observó que los T se sostuvieron 91,62 ± 38,62 s y los C 53,36 ± 25,12 s ($p<0,05$). El 70 % de los T logró una permanencia de 60 s, alcanzado sólo por el 30 % de los C. Los resultados mostraron que el tratamiento con PCA aumenta la fuerza muscular y la capacidad exploratoria con disminución del estrés. No se observó conducta agresiva en los animales tratados.

POS 06-64

Efeitos ingestivos e comportamentais da administração sistêmica de 8-OH-DPAT e mCPP em pombos (*Columba livia*). Eduardo Simao da Silva, Murilo Marcos dos Santos, Bruno Blanco Araujo, Manuela Brisot Felisbino, Marcelo Herdt, Marta Aparecida Paschoalini, Moacir Serralvo Faria Lab. Neurofisiologia Comparada, Depto de Fisiología, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.

O presente trabalho investigou os efeitos de injeções sistêmicas de 8-OH-DPAT (agonista 5-HT1A; 0.06, 0.2, 0.6 e 2 mg/kg) e mCPP (agonista 5-HT2C/1B; 0.3, 1 e 3 mg/kg) sobre a ingestão hídrica e alimentar e comportamentos não-ingestivos em pombos domésticos. As injeções foram administradas em dois períodos do ciclo claro-escuro, um período matutino (E1, 10 - 13h) caracterizado por ingestão de alimentos pequena e estável e um período vespertino (E2, 14-17 h) caracterizado por alta atividade ingestiva. Os episódios ingestivos e de comportamento de sono, alerta, locomoção, auto-limpeza e exploração foram analisados na primeira hora de cada período. O 8-OH-DPAT, tanto em E1 quanto em E2, aumentou a latência para o consumo de alimento e água, diminuiu o total ingerido em 3 e 24 horas, diminuiu a duração de exploração, auto-limpeza e alerta e aumentou a duração do sono na primeira hora investigada de cada período. A administração de mCPP, em E1 e E2, reduziu a quantidade de alimento ingerido mCPP causaram diminuição na quantidade de alimento ingerido e do tempo despendido para comer. Em todos animais tratados com mCPP ocorreu diminuição do comportamento de sono. Estes dados sugerem que: 1) a administração sistêmica de agonistas receptores 5-HT1A e 5-HT2C provoca hipofagia, porém, com efeitos comportamentais distintos; 2) receptores 5-HT1A em pombos, estão envolvidos no controle do comportamento de sono 3) receptores 5-HT2C participam do controle serotonérgico inibitório da ingestão de alimento

POS 06-65

Agonistas do receptor 5-$HT_{1B,}$ córtex pré-frontal e comportamento agressivo maternal após provocação social. Caroline P. da Veiga[1], Klaus A. Miczek[2], Aldo B. Lucion[1], Rosa M. M. de Almeida[3]. [1]Laboratório de Neuroendocrinologia do Comportamento, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, [2]Tufts University, Boston, USA,[3]Universidade do Vale do Rio dos Sinos - Unisinos, São Leopoldo, RS, Brasil.

A serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) é um dos neurotransmissores que possui um papel importante na neurobiologia do comportamento agressivo. Os receptores 5-HT_{1B} estão envolvidos em funções comportamentais e emocionais. Recentemente, no córtex pré-frontal, mais especificamente na região orbitofrontal, foi verificada uma importante inibição do comportamento agressivo. O objetivo desse trabalho foi avaliar os efeitos de 2 agonistas dos receptores 5-$HT_{1B,}$ o CP-94,253 e o CP-93,129, microinjentados no córtex pré-frontal: na região orbitofrontal, sobre o comportamento agressivo (elementos ofensivo e defensivo) de ratas submetidas à provocação social. Foram utilizadas ratas Wistar. O agonista dos receptores 5-$HT_{1B,}$ o CP-94,253 foi microinjetado nas doses de 0,56 (n=8) e 1,0 μg/0,2μl (n=8). O grupo controle consistiu de Dimetilsulfóxido (DMSO) 5% juntamente com 5% de Tween 80 diluídos em água destilada. (n=8). O outro agonista dos receptores 5-$HT_{1B,}$ o CP-93,129 foi microinjetado na dose de 1,0 μg/0,2μl (n=9) e o grupo controle consistiu de solução salina (n=8). Os resultados mostraram que o CP-93,129 diminuiu significativamente a freqüência dos comportamentos agressivos de: ataque lateral, postura agressiva e dominar (2,8 ± 1,1; 0,9 ± 0,6 e 0,1 ± 0,1), quando comparado com o grupo controle (12,0 ± 2,5;

6,1 ± 1,8 e 4,6 ± 1,2), ou seja, teve efeito somente sobre o elemento ofensivo do comportamento agressivo das fêmeas estudadas e não alterou os elementos motores. O CP-93,129, um agonista com maior especificidade para os receptores 5-HT_{1B} tem um efeito inibitório sobre o comportamento ofensivo, quando microinjetado no córtex pré-frontal, na região orbitofrontal de ratas submetidas à provocação social. Financiamento: UNISINOS, TUFTS UNIVERSITY e CAPES.

POS 06-66

Impairments of social behavior and memory after neonatal gastrin-releasing peptide receptor blockade in rats: implications for an animal model of neurodevelopmental disorders. Rafael Roesler, Juliana Presti-Torres, Maria Noemia de Lima, Felipe S. Scalco, Fabio Caldana, Vanessa A. Garcia, Marcelo R. Guimarães, Gilberto Schwartsmann, Nadja Schröder. Departamentos de Farmacologia e Medicina Interna, Universidade Federal do Rio GRande do Sul, e Laboratório de Biologia e Desenvolvimento do Sistema Nervoso, Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Garnde do Sul, Brasil.

The gastrin-releasing peptide receptor (GRPR) has been implicated in central nervous system (CNS) diseases, including neurodevelopmental disorders associated with autism. In the present study we examined the effects of GRPR blockade during the neonatal period on behavioral measures relevant to animal models of neurodevelopmental disorders. Male Wistar rats were given an intraperitoneal (i.p.) injection of either saline (SAL) or the GRPR antagonist [D-Tpi^6, Leu^{13} psi(CH_2NH)-Leu^{14}] bombesin (6-14) (RC-3095; 1 or 10 mg/kg) twice daily for 10 days from postnatal days (PN) 1 to 10. Animals treated with RC-3095 showed pronounced deficits in social interaction when tested at PN 30-35 and impaired 24-h retention of memory for both novel object recognition (NOR) and inhibitory avoidance tasks tested at PN 60-71. Neither short-term memory tested 1.5 h post-training nor open field behavior were affected by neonatal GRPR blockade. The implications of the findings for animal models of neurodevelopmental disorders are discussed.

POS 06-67

$P2Y_{12}$ OR $_{13}$ receptors are involved in the presynaptic inhibition induced by adenine nucleotides at the mouse neuromuscular junction. Silvana De Lorenzo, Mariela Veggetti, María Paula Magariños, Salomón Muchnik, Adriana Losavio. Lab. Neurofisiología, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Facultad de Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

At the neuromuscular junction, ATP is co-released with ACh, and once in the synaptic space, it is degraded to the presynaptically active metabolite adenosine. However, it was demonstrated that ATP is able to modulate ACh release through a direct effect via its own P2 receptors (R). We found that ATP and the non hydrolysable βγ-imidoATP reduced MEPP frequency by 45.3% and 55.9%. To investigate the type of P2R involved in this action, the effect of βγ-imidoATP on MEPP frequency was evaluated on CF1 mouse diaphragms in the presence of different P2 antagonists. Reactive Blue-2 ($P2Y_{4,6,11,12,13}$ R antagonist), but not PPADS (P2XR antagonist, although it was also described its action on the $P2Y_{1,4,6,13}$R), prevented the effect of the ATP analog (RB 98.8±2.8% of control values, RB+βγ-imidoATP 100.3±4.7 %, n:8), suggesting that the effect was mediated by P2YR. On the other hand, pertussis toxin and NEM (blockers of $G_{i/o}$ protein), abolished the action of the nucleotide (PTX+βγ-imidoATP 102.8±1.6%, n:4; NEM+βγ-imidoATP 122.9± 5.6%, n:4), indicating that the P2YR involved are coupled to $G_{i/o}$ protein. Amongst the P2YR, $P2Y_{12}$ and $_{13}$ are linked to $G_{i/o}$ protein; thus, the effect of βγ-imidoATP was studied in the presence of 2MeSAMP and ARC69931MX ($P2Y_{12/13}$ antagonists). Both drugs prevented the effect of βγ-imidoATP (2MeSAMP 89.5± 0.4%, 2MeSAMP+βγ-imidoATP 88.5±0.6%, n:4; ARC69931MX 97.0±4.9%, ARC69931MX+βγ-imido ATP 94.0±3.6%, n:4). Moreover, 2MeSAMP and ARC69931MX also antagonized the presynaptic modulation exerted by 2MeSADP (53.9±1.6%, n:4), which is the preferential agonist for these subtypes of R (2MeSAMP+2MeSADP 90.8 ± 1.5%, n:4; ARC69931MX+2MeSADP 94.6±2.0%, n:4). The results suggest that $P2Y_{12}$ or $_{13}$ receptors mediate the inhibition of spontaneous ACh secretion induced by adenine nucleotides at mammalian neuromuscular junctions.

POS 06-68

Efecto de las crisis hipertérmicas, sobre la susceptibilidad a crisis inducidas por el PTZ en ratas en desarrollo. [1]González-Ramírez M, [1]Salgado-Ceballos H, [1]Orozco-Suárez SA, [2]Rocha Arrieta LL. [1]Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas, Hospital de Especialidades. CMN S XXI, Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, México, D.F., C.P. 06720. [2]Depto. de Farmacobiología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados. Calz. Tenorios 235, México, D.F. C.P. 14330.

Objetivo: Determinar si las crisis hipertérmicas (CH) e hipertermia (HIP) en ratas inmaduras, producen cambios en la latencia e incidencia de las conductas causadas por PTZ: crisis mioclónicas, clónicas, tónica y muerte. **Materiales y métodos:** Se hicieron 3 grupos de animales, control normotérmicos, con crisis hipertérmicas (CH) las cuales se indujeron por el método descrito por Baram (1997) y el grupo hipertérmico(HIP) sin crisis, 30 min, 24hrs y 20 días después de CH o HIP, se evaluó la conducta convulsiva inducida con PTZ, los animales de 20 días sirvieron para evaluar el daño en hipocampo, corteza y amígdala. **Resultados:** El PTZ indujo en el grupo CH30min una disminución significativa en la latencia a crisis clónicas y tónica, mostró una

reducción en el porcentaje de animales a crisis clónicas (14%), tónica (43%) y mortalidad (37%). El CH24h mostró un aumento en la latencia a crisis mioclónicas, clónicas y tónica, el 100% de los animales presentaron crisis mioclónicas, clónicas y una reducción en el porcentaje de animales a la tónica (50%) y la mortalidad (67%), el CH 20d mostró una disminución en la latencia a crisis tónica, una reducción en el porcentaje de animales a crisis mioclónicas (29%), clónicas (29%) y tónica (43%), en el grupo H24h se observó un aumento significativo en la latencia a crisis mioclónicas, una reducción a clónicas (75%) y tónica (84%). El grupo H20d presentó un incremento en la latencia a crisis mioclónicas(156%) y clónicas (63%). En el grupo CH20d se observó una mejor preservación tisular del tejido comparado con grupo PTZ y HIP. **Conclusiónes:** Nuestros resultados sugieren que tanto las CH como la HIP producen efectos protectores y anticonvulsivantes a largo plazo.

POS 06-69

Niveles de dopamina en el estriado y accumbes por estimulación del núcleo subtalámico. Bárbara Fillipini, Cristian Höcht, Jorge Pazo. Lab. Neurofisiología, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ Buenos Aires, Argentina

El núcleo subtalámico (NST) es un componente importante de los Ganglios Basales y juega un factor crítico en el control del movimiemnto. Su hiperactividad consecutiva a la pérdida de las ujhneuronas dopaminérgicas de la SNc sería el desencadenante de la sintomatología del Parkinson, lo que lo transforma en un blanco estratégico para el tratamiento de dicha enfermedad. La estimulación electrica del NST con alta frequencia drasticamente reduce los movimientos anormales en esos pacientes. Nosotros tratamos de investigar los mecanismos que subyacen en esas acciones mediante estudios con microdiálisis intracerebral de la liberación de dopamina (DA) a nivel del estriado y del núcleo accumbens durante la estimulación del NST con parámetros similares a los usados para pacientes. Los experimentos se realizan en ratas anestesiados con uretano (1,2 g/kg, i.p.), en los cuales se recoge dopamina (DA) y DOPAC por microdiálisis cada 20 min. La activación de NST con trenes de pulsos 130 Hz, 60 μseg de duración, aplicados durante 20 min., con intensidad de 600 μA, produce un aumento de la dopamina a nivel del estriado (179,85 ± 15,7 % vs 100,90 ± 4 %, P = 0.012, N = 10, test-t apareado), sin mayores cambios en la DOPAC. El pico del aumento se observa durante la estimulación (2) y entre 40 a 60 min post-estimulación. La activación del NST con microinyecciones de bicuculina (25 ng/0.3 μl) produce un efecto similar. En el accumbens no hay cambios en los niveles de DA ni DOPAC. La lesión electrolitica (n=2) de la SNr no bloquea el aumento de la DA, ni modifica la DOPAC. De lo anterior concluimos, que la estimulación eléctrica del NST produce un efecto similar a la activación farmacológica, sobre la DA del estriado sin variar la del accumbens. Esto podría contribuir a la acción terapéutica de dicho núcleo

POS 06-70

Ultrastructural changes in the *locus coeruleus* (LC) of handled rats during neonatal period. [1]Elisa Cristiana Winkelmann-Duarte, [2]Gabriela Augusta Mateus Pereira, [1]Marilda da Cruz Fernandes, [2]Osni Gonçalves, [2]Lídia Silveira, [2]Ana Helena Brittes, [2]Maína Bonetti, [3]Aldo Bolten Lucion. [1]Lab. Pesquisas Patológicas, Depto de Ciências Morfológicas, FFFCMPA, Porto Alegre, [2]Lab. Anatomia, CME, ULBRA, Canoas, [3]Lab. Neuroendocrinologia, Depto Fisiologia, UFRGS, Porto Alegre.

The locus coeruleus (LC) is a nucleus of the nervous central system that modulates the activity of the gonadal and hypothalamus-hypophysis-adrenal axis through the noradrenaline secretion. Neonatal handling is known to decrease the number of neurons of the LC in animals. The objective of this work was to verify ultrastructural alterations of the LC caused by neonatal handling. Wistar pregnant rats were monitored for the date of birth of their cubs. In the first postnatal day the litter were divided in non-handled group (NH) (n=5), which remained with the mother without any intervention during the first ten days; and handled group (H)(n=5), which were gently manipulated, daily, one minute, for ten days. In the eleventh day, pups from both groups were perfused, under deep anesthesia, with 2% glutaraldehyde diluted in sodium phosphate buffer (0.1M, pH=7.3). The encephala were removed and remained in the same solution for seven days, when 300 μm thick sections through the LC area were cut on vibratome and fixed in 1% osmium tetroxide and embedded in Epon resin on microscope slides. Subsequently, the LC regions were isolated, fixed in paraffin blocks, subjected to semithin sections, stained with toluidine blue and then cut in ultrathin sections to structural analyses. Median and large size neurons were observed in the LC of animals with eleven days old. The qualitative analysis showed that handled rats presented a higher number of cells with apoptotic characteristics, such as chromatin condensation, presence of apoptotic bodies, wicked cellular membranes and formation of vacuoles, inspect of the organelles seemed intact. Our results suggest that neonatal handling induces ultrastructural alterations. Reduction in the neurons number in the LC may be related to an increasing in cellular apoptosis during a critical developmental stage of the nervous system in rats.

POS 06-71

Efeito da nicotina sobre a memória e estresse oxidativo em córtex e hipocampo de ratos velhos [1]Galhardi, F. G. [*];[2]Barros, D. M.;[3]Graebin, P. [*];[4]Ferreira, J.L.R. [*];[5]Geracitano, L.;[6]Monserrat, J.;[7]Izquierdo, I.; [1, 2, 3, 4, 5, 6] Departamento de Ciências Fisiológicas, FURG; Departamento de [7]Medicina, PUC-RS

A nicotina tem efeito estimulante e em altas doses pode ser tóxica. Este trabalho objetiva analisar o efeito da

nicotina sobre a memória na tarefa de esquiva inibitória (EI), sobre o dano de DNA, a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), a capacidade antioxidante total (TOSC) e a peroxidação lipídica (LPO) no hipocampo e córtex de ratos velhos. Foram utilizados ratos machos Wistar de 22-24 meses (600-620g), tratados com nicotina (NIC) a 0,3 e 1,0 mg/Kg (n=10/grupo), via subcutânea, durante nove dias. Os resultados na EI, expressos em medianas e intervalos interquartis, demonstraram que a NIC 0,3 facilitou a memória de longa duração (LTM) (180-176,4/180;71,3-47,6/82,3-controle) enquanto a NIC 1,0 facilitou tanto a memória de curta duração (STM) (180-180/180) como a LTM (180-180/180) em relação ao grupo controle (42,1- 25,2/100,5-STM e 71,3-47,6/82,3-LTM). Para determinação do dano de DNA foi utilizado o ensaio cometa. Somente a nicotina na maior dose demonstrou um aumento do dano de DNA (4,5±4,5 controle, 28,61±4,72) em hipocampo de ratos. No córtex não houve diferença significativa entre os tratados e o controle. A medida de EROs, analisada pelo método de fluorescência, no hipocampo foi significativamente maior na dose NIC1,0 (36611319±2065766) (28668725±1959096 controle) ($p<0,05$). No córtex os resultados demonstram que não houve diferença significativa em relação à produção de EROs entre os animais tratados e os controles ($p>0,05$). Não houve diferença significativa no TOSC entre os grupos tratados, em nenhuma das estruturas. A LPO demonstrou maior produção de lipídios peroxidados no hipocampo, na a maior dose (23.702±3.862 NIC 1,0 - 10.498±1.367 controle).Os resultados estão expressos em médias e erro padrão. Os dados sugerem que a nicotina promove uma

POS 06-72

Evidences of the participation of Anterior pretectalnucleus on the antinociception induced by occipital cortex electric stimulationin the rat. Reis G.M; Silveira, J J.W.S.; Petronilho, A; Dias-Jr,Q.M.; Prado W. A. Deptment of Pharmacology,Faculty of Medicine of Riberão Preto, University of São Paulo -SP,Brazil

The participation of cerebral cortex in the pain hasbeingobjectofseveral studies since pain behavior may be modified by cortical electricstimulation (E.E.). However, very little is known about the neural mechanismsinvolved in cortical pain modulation. This study investigates whether the E.E.of the occipital cortex (O.C.) promotes antinociception in a rat model of acute-pain. Male Wistar rats (160g) were chronically implanted with unipolar electrodein the O.C., and submitted to the tail flick (TFT) and rota-rod tests. TheO.C. stimulation produced immediate andcurrent-dependent increase of the latencies in the TFT. The lower effectivecurrentwas 15μA., which produced latenciessignificantly different from the sham group. Higher currents up to 20 - 50μAproduced similar effects to those seen after 15μA. Time course curves weresignificantly different regarding treatments ($p<0,001$), time and hadsignificant treatment x time interaction ($p<0,001$). No significant statistical difference($p<0.05$) between the sham group and the group stimulated at 30μA andsubmitted to the rota-rod test. Pre-treatment of anterior pretectal nucleus(APN) with lidocaine (2%) or methysergide (37pg) reduced the duration but notthe intensity of the responses to the occipital cortex E.E. These results led usto conclude: (1) The O.C. E.E. is antinociceptive in the TFT; (2) This effect depends on the APN integrity probably via serotonergic receptors.

POS 06-73

Efeito tipo ansiogênico da pilocarpina em ratos submetidos ao LCE é bloqueado pela inativação temporária da fimbria-fórnix (FF) e fórnix descendente (FD). Duarte, F.S.[1]; Gavioli, E. C.[2]; Hoeller, A. A.[3]; Duzzioni, M.[4]; Canteiras, N.S.[5].; De Lima, T.C.M.[6]. [1,2,6]Laboratório de Neurofarmacologia, Departamento de Farmacologia, UFSC, Florianópolis, SC, [3,4]Laboratório de Neurofisiologia Comparada, Departamento de Fisiologia, UFSC; [5]Departamento de Fisiologia, ICB, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

O presente estudo avaliou as alterações comportamentais de curta e longa duração de ratos tratados com pilocarpina (PILO) avaliados no labirinto em cruz elevado (LCE) e a participação do eixo septo-hipocampal (ESH), via inativação temporária da FF ou FD. Ratos *Wistar* machos adultos receberam uma única injeção de PILO nas doses de 25, 50 e 150 mg/Kg i.p., incapazes de promoverem *status epilepticus*, e 24 h após sendo submetidos ao LCE. Outros animais receberam 150 mg/Kg de PILO e foram divididos em dois grupos: (A) avaliados após 1, 2 ou 3 meses no LCE; (B) avaliados após 1 mês, mas submetidos à implantação bilateral de cânulas guia na FF ou FD para a injeção de lidocaína 4% (LIDO 4%) 5 dias após as cirurgias e 5 minutos antes da avaliação no LCE. Nossos dados mostraram que a dose de PILO 150 mg/kg reduziu de forma significativa a % de tempo gasto (24h: C = 34.39 ± 3.57; PILO25 = 42.99 ± 4.66; PILO50 = 37.17 ± 3.57; PILO150 = 8.24 ± 2.58*; 1m: C = 33.73 ± 2.28, PILO150 = 5.53 ± 6.16*; 2m: C = 42.80 ± 4.30, PILO150 = 19.50 ± 5.35*; 3m: C = 31.87 ± 5.50, PILO150 = 9.30 ± 4.88*) e nas entradas nos braços abertos (24h: C = 44.35 ± 1.38; PILO25 = 44.38 ± 3.64; PILO5) = 46.59 ± 3.04; PILO150 = 18.78 ± 5.52*; 1m: C = 42.83 ± 2.57, PILO150 = 15.03 ± 5.78*; 2m: C = 51.70 ± 2.70, PILO150 = 51.70 ± 2.70*; 3m: C = 42.48 ± 1.87, PILO150 = 19.61 ± 6.30*) assim como na incidência de imersões de cabeça, além do aumento no número de estiramentos corporais, indicativo de traço de emocionalidade. A inativação temporária da FF ou FD bloqueou completamente o efeito tipo ansiogênico da PILO, sugerindo que provavelmente o ESH é uma das vias neurais recrutadas pela estimulação dos neurônios colinérgicos primários.

POS 06-74

Functional caracterization of α4β2 recombinant

nicotinic receptors with point mutations in the TM2 domain. M. Marcela Lipovsek, Ana Belén Elgoyhen, Eleonora Katz. (INGEBI, CONICET-UBA)

The most abundant heteromeric neuronal nicotinic receptor, is formed by the α4 and β2 subunits. Mutations in these subunits are linked to a monogenic familial epilepsy known as ADNFLE (Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy). So far, 4 mutations in the α4 subunit and 2 in the β2 subunit have been described. Studies performed in Xenopus oocites showed an alteration in the electrophysiological and pharmacological properties of mutant receptors. To reproduce the human phenotype of ADNFLE, Klaasen et al. generated 'knock in' mice that carry one of the two most extensively characterized mutations in the α4 subunit: S248F and 776ins3. Both mutations are located within the second transmembrane domain. The goal of the present work was to study, using the two electrode voltage clamp technique, the functional properties of the recombinant receptors that result from the expression, in Xenopus oocytes, of mouse clones with the S248F or 776ins3 mutations in the α4 subunit. Both mutations affected the sensitivity of the receptor for acetylcholine (ACh). The pronounced effect caused by the S248F mutation allowed the discrimination in the ACh dose response curve of three different populations of receptors present in the membrane. The S248F mutant receptors desensitized more than wild type and 776ins3 mutant receptors. Responses to ACh were potentiated by the increase in extracellular calcium in both wild type and mutant receptors. Increasing the extracellular calcium concentration resulted in an increase in the aparent affinity of the wild type receptor for ACh, did not modify the EC_{50} of 776ins3 mutant receptors and affected homozigote and heterozygote S248F mutant receptors differentially. The results presented here are in agreement with published data for human wild type and mutant receptors. These results support the use of the knock-in mice as an animal model for the study of ADNFLE.

POS 06-75

Captação de 2-[^{14}C]-Deoxi-D-Glicose e de 3-0-Metil-[^{14}C]-Glicose em gânglio da raiz dorsal e medula espinal de rãs *Rana catesbeiana.* Fabiana Rigon; Danielle Kaiser; Roselis S. M. da Silva; Luiz Carlos Kucharski; Wania A. Partata, Departamento de Fisiologia, UFRGS, Brasil.

A glicose é o principal substrato energético para as células nervosas. Sua captação é mediada por transportadores específicos localizados em células endoteliais e gliais, bem como nos próprios neurônios. Todavia, permanece ainda desconhecido o padrão de captação da 2--[^{14}C]-deoxi-D-glicose (2-DG) e da 3-O-metil-[^{14}C]-glicose (3-O-metil) no sistema nervoso central e periférico de vertebrados não-mamíferos. É sabido que nestes animais o número de células gliais por neurônio é menor do que aquele observado em mamíferos, sendo também inferior sua taxa metabólica. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar o padrão de captação da 2-DG e da 3-O-metil em medula espinal lombossacral e gânglio da raiz dorsal de rãs *Rana catesbeiana*, espécie amplamente utilizada como modelo experimental em diversos estudos fisiológicos. Para isto, os gânglios das raízes dorsais bilaterais do nervo ciático e a medula espinal lombossacral de rãs *Rana catesbeiana*, adultas, machos, foram incubados em solução fisiológica acrescida de 0,15μCi de 2-DG ou de 3-O-metil . Os tempos de incubação empregados foram 60, 120 e 150 minutos. Para a captação de 3-O-metil utilizou-se ainda um grupo de amostras contendo em seu meio de incubação lactato não marcado. Terminado o tempo de incubação, os tecidos foram lavados e processados para a determinação da captação. Esta metodologia revelou a existência de captação tanto de 2-DG como de 3-O-metil no gânglio e na medula espinal. Os valores de captação da 3-O-metil foram sempre superiores àqueles da 2-DG. No gânglio, os valores obtidos aos 150' foram significativamente superiores àqueles dos 60'. Já na medula espinal não houve variação estatisticamente significativa entre os valores obtidos aos 60' e 120 minutos. A presença de lactato não alterou significativamente a captação de 3-O-metil nos períodos de tempo considerados. Como a célula nervosa foi capaz de utilizar o lactato, pode-se sugerir que há uma relação entre neurônio e células gliais no tecido nervoso de rãs, similar ao que ocorre em mamíferos. No entanto, diferente dos mamíferos, o tecido nervoso de rãs parece preferir a captação de 3-O-metil. Esta preferência poderia explicar a existência predominante de glicogênio nas células nervosas de rãs. (FAPERGS, CNPq, CNPq-PIBIC).

POS 06-76

Ganglios basales al núcleo reticular del tálamo. Julieta Lomastro, Mayra Decono Ambesi, Bárbara Fillipini, Jorge Pazo. Lab. Neurofisiología, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ Buenos Aires, Argentina

Algunos de las ganglios basales como el GP dorsal (GPd) y ventral y la Sustancia Negra reticulada (SNr) proyectan al núcleo reticular del Tálamo (NRT). Sin embargo su acción sobre el mismo no ha sido estudiada. El NRT es el único núcleo inhibidor del tálamo, lo que le permite controlar las relaciones tálamo-corticales y corticotalámicas. Nuestro objetivo fue analizar electrofisiologicamente las relaciones del GPd y de la SNr con dicho núcleo. Los estudios se realizaron en ratas anestesiadas y los registros con microelectrodos. Nuestros resultados preliminares muestran que la estimulación eléctrica del GPd produce una inhibición del 18% (ANOVA de una vía $P < 0.05$, n=10). La SNR produce una inhibición similar, 16% ($P < 0.05$, $n = 8$). No hubo diferencias en la duración de las inhibiciones (GPd: 135,35 ± 23 ms vs SNr: 198.87 ± 68 ms; t-test $P = 0.375$, $n = 18$). Una misma neurona responde a ambos núcleos, lo que supone superposición de las aferencias. Alrededor del 10% de las neuronas del NRT no responde a esas aferencias. Respuestas excitatorias se observa-

ron cuando la estimulación estaba cercana a la CI o el registro por fuera del NRT en núcleos talámicos cercanos. De lo anterior concluimos que la acción de esas aferencias son de tipo inhibitorio con la implicancia funcional que ello significa para las relaciones tálamo-corticales y corticotalámicas.

POS 06-77

Mecanismos implicados en la regulación a corto plazo de la actividad y expresión de Tirosina Hidroxilasa inducida por la endotelina-1 y -3 en Hipotálamo de rata. Guadalupe Perfume, Sabrina Nabhen, Agustina Batistone, Liliana Bianciotti, Marcelo Vatta, Cat. de Fisiología, Ins. de Química y Metabolismo del Fármaco (IQUIMEFA-CONICET), Fac. de Farmacia y Bioquímica, Univ de Buenos Aires, Argentina.

La Tirosina Hidroxilasa (TH) es la enzima limitante de la síntesis de catecolaminas. El principal mecanismo de regulación de la actividad de TH a corto plazo es la fosforilación de sitios Ser específicos. En trabajos previos, observamos que las endotelinas (ETs) disminuyen a corto plazo la actividad de TH en hipotálamo anterior (HA) y posterior (HP) de rata. Dichos efectos son mediados por el receptor ET_B en HA y por un receptor atípico en HP y en ambos casos involucrando la vía del NO/GMPc/PKG. Con el objeto de continuar las investigaciones determinamos otras vías intracelulares involucradas y los niveles de TH total y de los sitios fosforilados(Ser 19,31 y 40). Los experimentos se llevaron a cabo incubando HA y HP de ratas macho Sprague Dawley (200-250 g) durante 30 min. en ausencia o presencia de ETs (10 nM) y de los inhibidores de las vías intracelulares estudiadas. Se determinó la actividad de TH por método radioenzimático y los niveles de TH total y de los sitios fosforilados por Western Blot. Tanto en HA como en HP, la disminución de la actividad de TH producida por ambas ETs no se bloqueó en presencia de H-89 500nM (inhibidor de PKA) observándose efecto contrario en presencia de U73122 10uM y KN-62 1uM (inhibidores de PLC y CAMKll, respectivamente). Además observamos que las ETs no modifican a corto plazo los niveles de TH total. Sin embargo, las ETs disminuyeron los niveles de pSer19, pSer31 y pSer40. En base a estos resultados, podemos concluir que en HA y HP la disminución a corto plazo de la actividad de TH producida por ETs también involucra la vía de los fosfoinosítidos y a la CAMKll pero no a la vía de la PKA. Esta disminución de actividad enzimática puede deberse a la observada disminución de los sitios Ser fosforilados lo cual es consecuente a un aumento de la actividad de fosfatasas o a una disminución de la actividad de las quinasas correspondientes.

POS 07
Fisiología ocular
Eye Physiology

POS 07-01

Functional role of potassium-chloride cotransporter in the proliferation of human corneal epithelial cells. José Capó-Aponte, Zheng Wang, Peter Reinach, Lab. Biological Sciences, State University of New York, College of Optometry, New York, NY.

The K^+/Cl^- cotransporter (KCC) plays a crucial role in inducing volume regulation in human corneal epithelial cells (HCEC). KCC also has been implicated in the signaling promoting cell proliferation in other cell types. In this study, we sought to determine in HCEC: 1) protein expression of multiple KCC isoforms; 2) the involvement of p44/42 mitogen-activated protein kinases signaling in inducing regulatory volume responses resulting from changes in KCC activity. Cell volume changes, induced by a 50% hypotonic challenge (150 mOsm) in calcein-loaded SV40-immortalized HCEC, were characterized using a fluorescence microplate analyzer. Western blot analysis was used to determine the specific KCC isoforms and their involvement in regulatory volume decrease (RVD), as well as the phosphorylation status of p44/42. The KCC inhibitor, DIOA (100 μM), blocked RVD induced by a 50% hypotonic challenge by 35%. HCEC expressed the isoforms: KCC1 (~135 kDa), KCC3 (~150 kDa), and KCC4 (~170 kDa). KCC1 plasma membrane content increased three-fold at 2.5 min after initiation of the hypotonic challenge. In addition, a 50% hypotonic challenge induced a five-fold increase in p44/42 phosphorylation at 2.5 min, which declined to baseline values after 30 min. Stimulation of KCC with *NEM* (1mM) under isotonic conditions increased p44/42 phosphorylation by five-fold, while KCC blockage with DIOA decreased the hypotonicity-induced p44/42 activation by 65% in HCEC. This is the first report establishing the presence of multiple KCC isoforms in HCEC. These findings suggest that KCC1 play a role in 1) maintaining isotonic steady-state cell volume homeostasis; 2) hypotonicity-induced RVD; 3) regulating hypotonicity-induced activation of the p44/42MAPK signaling pathway which is required for cell proliferation.

POS 07-02

Dynamics of neuropithelial cell proliferation in the developing chick optic tectum. M. Rapacioli, A. Ortalli, R. Rodriguez, V. Sánchez, G. Scicolone, J. Mazzeo, V. Flores. Interdisc. Group in Theoretical Biology; Favaloro University - Lab. Developmental Neurobiology, Inst. Cell Biol. and Neurosci. "Prof. E. de Robertis"; UBA. Argentina.

The developing chick optic tectum (OT) is used as experimental model to analyze the spatial/temporal organization of the proliferative activity. Analyses of variability of proliferation were performed as a function of two intrinsic spatial axes (cephalic-caudal and dorsal-ventral) during the entire proliferative period. Spatial coordinates of every mitotic cell were recorded on histological sections obtained from OT of different developmental stages. Several space signals representative of the proliferative process were constructed in order to apply conventional statistical methods (ANOVA test and Kruskall-Wallis), spectral analysis (Power Spectral Density) and non-linear methods (Fano Factor, Allan Factor, Detrended Fluctuation Analysis) that allow dynamics characterization and scaling coefficient estimation. Results indicate that a) the proliferation dynamics significantly changes as a function of the developmental stage; b) at the time of maximal activity the dynamics corresponds to a non-stationary process; c) it can be described as comprising deterministic and stochastic components; d) the deterministic component can be described as a global trend; e) the second one corresponds to a stochastic process whose values of scaling coefficients are indicative of the existence of local correlation. These results can be interpreted as manifestation of the operation of a) a long-range developmental influence that installs space-dependent differences on the whole neuroepithelial cell population along the cephalic-caudal axis and b) short-range interactions among proliferating cells leading to clusterization and a non-uniform spatial distribution. These theoretical analyses interpreted together with 2D and 3D representations of the proliferative activity indicate the existence of a defined area of the tectal hemisphere ("proliferation region") of maximal activity that characteristically moves towards the caudal end as development progresses. Supported by grants from CONICET (Argentina)

POS 07-03

Role of EphA3 and ephrinAs in axonal growth of retinal ganglion cells. A. Ortalli, NG Carri, V. Sánchez, M Rapacioli, V. Flores, EB. Pasquale, G. Scicolone. Inst. Cell Biol and Neurosci.School of Medicine, UBA; Interdisc. Group in Theoretical Biology; Favaloro University - ARGENTINA.

The retinotectal system is a widely studied topographic map. Retinal axons establish ordered connections in the optic tectum (OT). Nasal retinal ganglion cells (RGCs) connect to the caudal OT and temporal RGCs, to the

rostral OT. Recognition of guidance cues in the target is the main mechanism of map formation. EphrinAs are guidance cues located in the caudal OT and repel temporal axons activating axonal EphA3 and EphA4. It is unknown whether tectal EphA3 participate in axon guidance and how nasal RGC axons grow towards the caudal OT. The effects of EphA3 on axonal length was analyzed in explants and dissociated neurons of chick embryos retinas. EphA3 promoted axon growth differentially in nasal and temporal cells in a dose dependent manner. Growth cone behavior was studied in time-lapse experiments in which explants were grown over EphA3-expressing cells. Growth cones expanded upon contact with EphA3-expressing cells. Nasal growth cones extended over EphA3-expressing cells but temporal growth cones remained attached. Results suggest that axonal and tectal EphA3 guide axonal growth over the tectal surface, acting as receptors of the repulsive tectal ephrinAs and as stimulatory ligands, respectively. To elucidate if axonal ephrinAs mediate the stimulating effect of EphA3, retinal explants grown on EphA3 were treated with PI-PLC, to shed ephrinAs. EphA3-stimulated nasal cells increased axonal length at low PI-PLC doses, but reduced it at higher doses. Temporal cells showed a weaker response. Non-stimulated cells increased axonal length at every PI-PLC dose, suggesting that GPI-anchor proteins (perhaps ephrinAs) reduce axonal growth. The effect of PI-PLC on EphA3-stimulated axons suggests that a lack of ephrinAs impairs EphA3-elicited axonal growth. EphrinAs could have a double role: repulsive tectal ligands for axonal EphAs and receptors of stimulatory tectal EphA3.

Supported by grants from CONICET and UBACYT (Argentina).

POS 08
Regulación de la presión arterial y control del medio interno
Blood Pressure Regulation and Body Fluids Control

POS 08-01

Participación del adrenoceptor beta-1 en la respuesta presora a la angiotensina II en el hipotálamo anterior de ratas hipertensas por sobrecarga de fructosa. Marcos Mayer, Christian Höcht, Mariela Gironacci, Javier Opezzo, Carlos Taira, Belisario Fernández, Ana Puyó, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

En el presente trabajo se evaluó la respuesta presora a la administración de angiotensina II (Ang-II) en el hipotálamo anterior (HA) de ratas hipertensas por sobrecarga dietaria de fructosa. También se estudió la participación de los receptores β_1-adrenérgicos en el efecto presor del octapéptido. Ratas Sprague Dawley macho fueron divididas en 2 grupos: (F): fructosa (10% P/V como bebida por 42 días); (C): grupo control (agua como bebida). Se canuló una arteria carótida para la determinación de la presión arterial media (PAM) y, mediante estereotaxia, se colocó una aguja inyectora en el HA En un primer experimento se administró en el HA Ang-II cada 30 minutos (5, 50 y 50 ng cada vez). evaluándose las modificaciones en la PAM. Luego se repitió el protocolo con la dosis alta del péptido, evaluando la respuesta presora a la Ang-II (50 ng) previa y posteriormente a la administración intrahipotalámica del antagonista β1-adrenérgico selectivo metoprolol. La Ang-II produjo un efecto presor dosis dependiente, siendo el mismo mayor en las ratas F (Ang-II 5 ng: ΔPAM: 9,4±1,1 mmHg; Ang-II 50 ng: ΔPAM: 12,5±1,6 mmHg, $p<0,05$ vs C) que en el grupo C (Ang-II 5 ng: ΔPAM: 2,5±0,8 mmHg; Ang-II 50 ng: ΔPAM: 4,8±0,8 mmHg). La segunda dosis de Ang-II (50 ng) no modificó la respuesta presora al péptido en ambos grupos experimentales. El metoprolol redujo el efecto presor de la Ang-II (50 ng) en las ratas hipertensas F (ΔPAM: 4,0±1,4 mmHg, $p< 0,05$ vs. Ang-II), pero no en los animales C (ΔPAM: 1,9±2,7 mmHg). En conclusión, existiría una respuesta presora incrementada a la Ang-II en el HA de ratas F, la que se debería, al menos en parte, a la activación de receptores β_1-adrenérgicos como consecuencia de un probable incremento en la liberación de noradrenalina estimulado por Ang II.

POS 08-02

The angiotensin II sustained effect on the Na^+-ATPase involves sequential activation of PLD and PLA2 [1]De Souza, A.M.; [1]Carvalho, T.L.G., [2]Lopes, A.G., [1]Caruso-Neves, C. [1]Laboratório de Bioquímica Renal, [2]Laboratório de Fisiologia Renal, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ, Brazil.

Objective: Previous data from our Laboratory showed that Angiotensin II (Ang II) stimulates Na^+-ATPase activity, via PI-PLC/PKC activation. The increase in enzyme activity was observed after 30 minutes, however PI-PLC activation occurs in a short and transient manner (peak at 30 seconds). These results suggest the involvement of distinct signaling pathways in the sustained effect of this peptide on the Na^+-ATPase activity. This work focused on the determination of the sequential pathways activated in this process. **Methods and Results:** The Na^+-ATPase activity was measured according to the method described by Grubmeyer e Penefsky (J. Biol. Chem. 256: 3718-3727, 1981). The temporal analysis of Ang II effect on the ATPase showed a transient activation of the enzyme (100% increase at 30 seconds), with subsequent fall and maintenance of the activity around 50%, up to 5 minutes. At later times the enzyme activity reaches 140% stimulation. The temporal course of PLD and PLA2 activities in the presence of Ang II, measured by TLC techniques, reveals the activation of both enzymes at a maximal peak of 1 minute. After 5 minutes the PLD activity falls and PLA2 activity is sustained for 20 minutes, reaching 1/3 of the initial stimulus at 30 minutes. Measurement of Ang II-stimulated PKC activity, showed a maximal activation at 1 minute, being this effect maintained over 20 minutes. The PKC activity was measured by calphostin C - sensitive incorporation of ^{32}Pi, using histone as substrate. **Conclusion:** Taken together these data indicate that the Ang II sustained effect on the Na^+-ATPase activity occurs via PKC and involves the sequential activation of PLD and PLA2 and theirs products.

POS 08-03

Potenciales Evocados Cognitivos (P300) en paciente con Hipertensión Arterial. María Esther de Quesada, Cátedra de Fisiopatología, Escuela de Medicina "J.M. Vargas", Universidad Central de Venezuela, Guido F. Díaz, Unidad de Estudios Neuropsiquiátricos, Caracas, Venezuela.

La Hipertensión Arterial (HTA) es una de las causas principales de Encefalopatía Vascular, porque desencadena hipoperfusión neuronal por el incremento del stress de pared que ésta produce. En estudios realizados en nuestro laboratorio se evaluó la condición cognitiva de pacientes hipertensos sin ninguna complicación sistémica ni cardiovascular y se había encontrado alargamiento de latencias y reducción de amplitudes en la

onda P300; asimismo, se había descrito la ausencia de respuesta como elemento importante en la interpretación de mecanismos fisiopatológicos que conllevan al establecimiento de daño cerebral. Se estudiaron 50 pacientes hipertensos, 25 con Hipertensión Arterial tipo 1 y el resto del grupo 2, según la clasificación del VII Comité para el estudio de la HTA. En ningún caso había elementos de Encefalopatía Vascular. Fueron estudiados 30 sujetos sanos pareados en edad con los pacientes. A todos se les registraron los Potenciales Evocados Cognitivos (P300) visual y auditivo con la aplicación de un paradigma de estimulación tipo "odd ball", registrados en todas las derivaciones del Sistema Internacional 10-20. Se midieron la latencia y la amplitud del componente P300 en las derivaciones en que éste estuvo presente y también se determinó la frecuencia con que no se presentaba esta respuesta en cada sujeto, para cada derivación. Se encontró que la latencia estuvo alargada en los pacientes sobre todo en las regiones parieto-temporales y la amplitud estuvo globalmente disminuida. Se encontró también que la ausencia de respuesta fue más notable en los pacientes del grupo 2 y que tal hallazgo predominó en las regiones frontales, principalmente en la P300 auditiva. Se discuten los resultados tomando en cuenta las posibles consecuencias de un estado de hipoperfusión en el territorio de la arteria cerebral anterior en tales pacientes.

POS 08-04

Participation of serotonergic and oxytocinergic systems on sodium intake regulation. [1]Godino, A.;[2]Antunes-Rodrigues, J.;[3]De Luca, LA Jr, [1]Vivas, L. [1]INIMEC, Cba., Argentine. [2]Physiology Dept.,USP, Physiol. and Pathol. Depts., UNESP Brazil.

Our studies demonstrated the inhibitory participation of the serotonergic (5HT) and oxytocinergic (OT) systems on sodium appetite induced by peritoneal dialysis (PD). In this model the activity of 5HT neurons increased after 2% NaCl intake and decreased when the animals were sodium depleted; however, the activity of the OT neurons appeared only after 2% NaCl intake. This effect would not be specifically associated with an inhibitory influence of oxytocin on sodium appetite; maybe it would be a consequence of the OT system stimulation by means of hypernatremic signals. The aim of this study was to discriminate whether the activation of the 5HT and OT neurons observed in our paradigm is the result of sodium satiation process or the stimulation induced by hypertonic sodium ingestion. Adult male Albino rats were sodium depleted by PD. Twenty-four hours after PD or Control peritoneal dialysis (CD), the groups had access to 2% NaCl (CD 2% and PD 2% groups) or 0.9% NaCl (CD 0.9% and PD 0.9% groups) drinking test. Rats were decapitated and bled after drinking and OT plasma levels were measured by RIA. Another group was perfused for immunohistochemical detection of Fos, Fos-5HT and Fos-OT, 90 min. after drinking. Sodium intake induced by PD significantly increased the number of Fos-5HT cells ($P<0.001$), independent of NaCl concentration of fluid consumed. In contrast, the number of Fos-OT neurons, increased after 2% NaCl intake ($P<0.05$) but did not change after 0.9% NaCl ingestion. The OT plasma levels significantly increased in PD 2% groups compared to others showing a synergic effect of both factors ($P<0.05$). In summary, 5HT neurons were stimulated after body sodium status reestablishment consistent with the idea that this system is activated under conditions of satiety. In relation to the OT system both, the OT neural activity and the OT plasma levels were increased by the entering of hypertonic NaCl solution during sodium consumption, suggesting that this system is involved in the processing of hyperosmotic signals. Supported by CONICET, ANPCyT and CNPq.

POS 08-05

Acción vasorrelajante de cuatro *bis*-1,4 dihidropiridinas en anillos de aorta de rata

[1,2]Raquel Gómez, [1]René Miranda, [1]Roberto Osnaya, [3]Francisco Delgado, [1]José Trujillo, [4]Rafael Villalobos, [3]Eduardo Ramírez*. [1]Escuela Superior de Medicina, IPN, [2]Facultad de Estudios Superiores-Cuautitlán, UNAM, [3]Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN,[4]Escuela Nacional de Estudios Profesionales-Iztacala, UNAM, México.

En este trabajo se investigó el efecto vasodilatador de una serie de cuatro *bis*-1,4-dihidropiridinas (***bis*-DHPs: 01-04**) en anillo de aorta, precontraídos con KCl [80 mM] o noradrenalina [$1x10^{-7}$ M], así mismo, se evaluó la actividad de los compuestos como antagonistas del calcio en el músculo liso vascular despolarizado con una solución de KCl libre de calcio. Las moléculas fueron sintetizadas mediante un método benigno al medio ambiente en la cuál una segunda molécula de 1,4-dihidropiridina fue incorporada en la correspondiente molécula arílica en posición *para* y *meta*. De las cuatro *bis*-DHPs estudiadas, los regioisomeros en posición *meta* (***bis*-DHP-03 y *bis*-DHP-04)** indujeron un efecto vasorrelajador mayor, las IC_{50} fueron ($1.5x10^{-6}$-$2.4x10^{-7}$M) Las curvas logarítmicas concentración-respuesta al calcio se desplazaron hacia la derecha, es muy probable que el mecanismo de acción de las moléculas en estudio sea a través del bloqueo de canales de calcio. Agradecimientos: DGAPA PAPIIT-UNAM, *IN 208202*; CONACYT, CGPI-IPN 20040250/DGETI-SEP.

POS 08-06

Inhibition of angiotensin converting enzime decreases nocturnal sodium appetite in ovariectomized rats. Ailin Lepletier, André S. Mecawi, Iracema G. Araujo, Patrícia A. Polo, Magda A. Medeiros & Luís C. Reis. Depto. de Ciências Fisiológicas, Inst. de Biologia, UFRuralRJ, Brasil.

Introduction: This study was undertaken to investigate the sodium appetite response in ovariectomized rats (OVX rats) which were submitted to daily and nocturnal basal or sodium depletion evaluations followed by systemic and central captopril (CAP) injection to inhibit the brain angiotensin (ANG) generation. **Methods & Re-**

sults: Wistar female rats weighing 220-280g were ovariectomized and kept in metabolic cage with free access to water and 1.8% NaCl. Experiments were carried out (N=6-18) under daily and nocturnal basal and sodium depletion conditions in OVX rats submitted to systemic (50 and 100mg/kg, ip) and icv (23-230nmol/2μl) CAP. OVX rats displayed a high basal salt ingestion through daily and nocturnal evaluation compared to normal male rat's response. Systemic administration of lower dose of CAP induced a long-lasting increase of water intake (5.2±0.5ml vs 2.8±0.4ml, at 240min, P<0.05) without effect on the salt intake. Higher dose increased the water intake (2.1±0.3ml vs 0.6±0.3ml, at 120min, P<0.05) and induced a powerful decrease of NaCl intake (1.1±0.4ml vs 3±0.4ml, at 360min, P<0.05). Same CAP dose induced a long-lasting decrease of water (6.5±0.5ml vs 16±0.8ml, P<0.05) and NaCl intake (1.7±0.5ml vs 11.1±0.6ml) in OVX sodium-depleted rats, at 180min. Higher icv dose of CAP injection induced a decrease of water (4.4±0.5ml vs 6.5±0.6ml, at 240min, P<0.05) and NaCl (2.9±0.5ml vs 1.4±0.3ml, at 360min, P<0.05) intake under nocturnal evaluation. Similar results were obtained in sodium depleted-rats. **Conclusions:** Results of peripheral injection of CAP suggest participation of systemic ANGII in sodium appetite of OVX rats during nocturnal basal condition and after sodium-depletion. Data from icv CAP injection suggest a brain ANGII generation involved in nocturnal basal sodium appetite of OVX rats. **Support:** PIBIC/CNPq.

POS 08-07

Hypodipseptic and sodium appetite responses related to vasopressin and oxytocin release during chronic sertraline treatment. Ana P. Magalhães-Nunes, Daniel Badauê-Passos Jr*, Renato R. Ventura*, Daniel S. Guedes Jr, Jaqueline P. Araújo, Hevellyn K. Milanez-Barbosa, Ricardo H. Costa-e-Sousa, Magda A. Medeiros, José Antunes-Rodrigues* & Luís C. Reis. Depto. de Ciências Fisiológicas, Instituto de Biologia, UFRuralRJ. Depto de Fisiologia, Fac. de Medicina de Ribeirão Preto, USP, Brasil.

In order to investigate the hypothesis of the serotonergic system on the control of dipsogenic and sodium appetite we examined the effects of chronically-treated rats with the selective serotonin re-uptake inhibitor, sertraline (SERT, 180mg/mL, in drinking water). Basal consumption of water in SERT-treated rats was always lower than the controls. Water deprivation induced a lower water intake in SERT-treated rats than the controls (9.7 ± 0.5mL vs 20 ± 0.9mL, at the 300min, after water presentation, P<0.0001). Osmotic simulation evoked a dipsogenic response significantly lower in SERT group (2.6 ± 0.7 mL vs 5.6 ± 0.4mL, at the 300min, P<0.0001). Fluids and food deprivation induced a weak dipsogenic response in SERT treated-rats compared to controls (1.6 ± 0.5 mL vs 10.2 ± 1.2mL, at the 300min, P<0.0001) but without difference in saline intake. Sodium depletion induced a more intense natriorexigenic response in group SERT (1.2 ± 0.3mL vs 5.6 ± 1.3 mL, at the 300min, P<0.0002). An increased urinary density and decreased plasma sodium levels in SERT-treated rats correlated with the higher plasma vasopressin and oxytocin (AVP, 2.65 ± 0.36 pg/mL vs 1.31 ± 0.16pg/mL, P<0.005; OT, 17.16 ± 1.06pg/mL vs 11.3 ± 1.03pg/mL, P<0.0009) levels at the 3rd week post-treatment. The results constitute the first evidence of alterations on the threshold for thirst and sodium appetite response in SERT-chronically-treated rats. These alterations possibly are consequence of the hyponatremia provided by inappropriate secretion of AVP and OT. **Support:** DCF/IB/UFRuralRJ, PIBIC/CNPq.

POS 08-08

Blockade of AT1 receptor inhibits nocturnal sodium appetite in ovariectomized rats. André S. Mecawi, Ailin Lepletier, Iracema G. Araujo, Patrícia A. Polo, Magda A. Medeiros & Luís C. Reis. Depto. de Ciências Fisiológicas, Instituto de Biologia, UFRuralRJ, Brasil.

Introduction: This study was undertaken to investigate the sodium appetite response in ovariectomized rats (OVX rats). Thus, OVX rats were submitted to daily and nocturnal basal observation and then they were treated with losartan by systemic and central injection to block the brain angiotensin II (ANGII) AT1 receptors. At last, sodium appetite was evaluated in sodium-depleted OVX rats and treated with losartan. **Methods & Results:** Wistar female rats weighing 220-280 g were ovariectomized and kept in metabolic cage with free access to water and 1.8% NaCl. Experiments were carried out (N=6 to 18, each group) in daily nocturnal basal condition and in sodium depleted-rats after systemic (LOS, 50 and 100 mg/kg, ip) and icv (5-50μg/2μl) losartan, an ANGII antagonist. OVX rats displayed a high basal salt ingestion through daily and nocturnal evaluation compared to normal male rat's response. Systemic administration of higher dose of LOS induced an early increase of water intake and a later decrease of nocturnal basal saline intake (9.5±0.7 vs 5.2±1.6 ml, at 720 min, P<0.05). Systemic higher dose of LOS induced a long-lasting decrease of of nocturnal water (13.3±0.8 ml vs 6.4±0.7 ml, P<0.05) and NaCl intake (9.0±0.7 vs 5±0.2 ml, P<0.05) in OVX sodium depleted rats, at 60 min. Finally, icv higher dose of LOS induced a long-lasting inhibition of nocturnal basal water and NaCl intake (2.9±0.5 vs 1.4±0.3 ml; 6.4±0.7 vs 3.4±0.5 ml, at 360 and 720 min, respectively, P<0.05). Similar results were observed in sodium depleted-rats. **Conclusions:** Results of peripheral injection of LOS suggest participation of systemic (and probably central as well) in sodium appetite of OVX sodium depleted rats. Results from icv ANGII injection suggest a brain ANGII mechanism involved in nocturnal basal sodium appetite of OVX rats. **Support:** PIBIC/CNPq.

POS 08-09

Physiological responses of the freshwater crayfish, *Cherax quadricarinatus*, to different experimental salinities. Natalia Prymaczok,

Daniel Medesani, Enrique Rodríguez. Dept. of Biodiversity and Experimental Biology, FCEyN, University of Buenos Aires. Ciudad Universitaria, Pab. II. C1428EHA Buenos Aires, Argentina.

Adult male crayfish *Cherax quadricarinatus* were exposed to the salinities of 0 (control), 7.5, 15, 25 and 35 gL^{-1} for 3 weeks. Survival, oxygen consumption rate, hemolymphatic levels of glucose, lactate, sodium, potassium and free amino acids (FAA), as well as FAA concentration in muscle, were determined. Survival was significantly reduced ($p<0.05$) only at the highest salinity assayed, but both locomotion and feeding were reduced at the two highest concentrations. Although no significant differences ($p>0.05$) were detected in the oxygen consumption rate, a noticeable drop of this variable was noted at 35 gL^{-1}, while in hemolymph both a significant ($p<0.05$) increase of glucose and decrease of lactate were observed at that salinity. These results are suggesting that a metabolic depression could have taken place at the highest salinity, probably involved in the exhaustion phase of the stress syndrome. Concerning ions, both hemolymphatic sodium and potassium increased with salinity, but just at 25 and 35 gL^{-1} a clear overpassing of ionoregulatory mechanisms was observed. No significant ($p>0.05$) change was seen in hemolymphatic FAA as salinity increased, but FAA content in muscle showed an increase parallel to that of hemolymphatic sodium, in accordance with their expected function in the isosmotic regulation of muscular cells.

POS 08-10

Time-Dependent changes in vascular function of resistance arteries from ouabain-induced hypertensive rats. Wenceslau, CF; Peres, EC; Couto, GK;Ferreira-Neto HC; Rossoni, LV. Depart. of Physiol. & Biophys., ICB-USP/ Brazil

Aim: We have shown that 5 weeks of ouabain (OUA)-treatment in Wistar rats induces hypertension (HA) and modify the Na^+K^+-ATPase activity (NKAA) and vascular reactivity. The present study aims to analyze these parameters on mesenteric resistance arteries (MRA) after 5 and 20 weeks of OUA-treatment. **Methods:** Weekly, arterial pressure (AP) was measured by tail-cuff method during 5 or 20 weeks of OUA (8.0 µg/day, sc) or Vehicle (VHE) treatments. 3rd branches of mesenteric bed were dissected and the rings mounted in a small-vessel myography. Basal tension was normalized to a pressure of 100mmHg and the internal diameter (ID) was calculated. Constrictor response to KCl (120mM) and noradrenaline (NA, 100nM-30µM) and dilatation response to acetylcholine (ACh, 0.01nM-30µM) were performed. To evaluate NKAA, with or without 100µM OUA, rings were incubated in a K^+-free solution and vasodilatation-response curves to KCl (1-10mM) were obtained. Statistical analysis: ANOVA, *$p<0.05$.**Results**: AP was higher in both OUA groups (±20%). After 5 weeks, NA-response did not change. However, NA-sensitivity was increased after 20 weeks of OUA (VHE 6.04±0.07 vs OUA 6.41±0.05*). NKAA was increased after 5 weeks (65%) while it was inhibited after 20 weeks (31%). There are no differences in ID neither in KCl- nor ACh-induced response among groups.**Conclusions**: There are time-dependent differences on the NA-induced contraction and on the NKAA in MRA from OUA. Our data suggest that after 20 weeks of OUA treatment, but not 5 weeks, the MRA could be a mechanism to contribute to the maintenance of HA. **Supported by FAPESP and CNPq**

POS 08-11

Time-dependent caracterization of vascular reactivity in α2A/α2C- adrenoceptors knockout mice. Couto GK; Davel APC; Brum PC; Rossoni LV. Dept. of Physiol. and Biophys., ICB, USP, SP, Brazil

Introduction: Sympathetic nervous system is modulated by α2A/α2C-adrenoreceptors (AR) subtypes, and this system is involved in the control of cardiovascular function. The disruption of both AR in mice leads to a chronically elevated sympathetic tone as observed in some cardiovascular diseases. Thus, the aim of this study was to analyze the vascular function in a time-dependent manner on α2A/α2C-AR knockout (KO) mice. **Methods:** Contractile-response curves to phenylephrine (PE 100pM-10uM) and serotonin (5-HT 100pM-10uM) and vasodilator-response curves to acetylcholine (ACh 1nM-10uM), sodium nitroprusside (NPS 1pM-3uM) and isoproterenol (ISO 1pM-3uM) were performed in aortic rings from male KO and wild-type C57BL6/J (WT) mice with 3, 5 and 7 months-old. Heart chambers were separated and weighted to evaluated the hypertrophy index. *t*-test or ANOVA, $p<0.05$. **Results:** Neither contractile response to 5-HT and PE (PE: Emax as % of contraction to KCl 125mM: 3m: 101±9 vs 84±5; 5m: 80±8 vs 88±5 and 7m: 123±11 vs 110±11%; WT vs KO respectively) nor vasodilatation to ISO, NPS and ACh did not change in all KO mice groups (ACh: Emax as % of relaxation: 3m: -79±4 vs -84±4; 5m: -85±4 vs KO -83±6 and 7m: -85±4 vs -86±3%; WT vs KO respectively). However, left ventricular hypertrophy was observed in 5 and 7 months-old KO mice as compared to their WT (11% and 12%, respectively). **Conclusions:** Despite of left ventricular hypertrophy, lacking of α2A/α2C-AR was not able to modify the vascular reactivity to contractile and vasodilator agents in an time-dependent manner on aortae from mices. **Supported by FAPESP and CNPq**

POS 08-12

Efectos de los esteroides gonadales sobre la densidad de receptores estrogénicos alfa en la Lamina Terminalis y en el mecanismo de regulación de la sed hipovolemica. Carolina Dalmasso y Laura Vivas. Laboratorio de Homeostasis Hidrosalina. Instituto de Investigación Médica M. y M. Ferreyra. Córdoba, Argentina.

Los esteroides gonadales circulantes modulan el balance

hidrosalino mediante la regulación de la liberación de vasopresina (AVP) y la sed inducida por estimulación osmótica. Trabajos previos sugieren que esta regulación estaría mediada por receptores estrogénicos ubicados a lo largo de la Lamina Terminalis (LT). La LT, conformada por el órgano subfornical (SFO), organum vasculosum de la lamina terminalis (OVLT) y el núcleo mediano preóptico (MnPO) ha sido extensamente involucrada en el control de la sed, así como también de la liberación de AVP a través de sus proyecciones hacia los núcleos supraóptico y paraventricular. El objetivo del presente trabajo fue investigar si los cambios en los esteroides gonadales influencian la sed hipovolémica y el apetito por el sodio inducido por la administración de furosemida y dieta baja en sodio (FURO-DBS), así como la densidad de receptores estrogénicos alfa a lo largo de la LT. Nuestros resultados indican que la ovariectomía (OVX) disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) la ingesta de agua inducida por FURO-DBS, en comparación a hembras intactas. La administración de Estradiol (E) a hembras OVX, produjo un incremento no significativo en la ingesta de agua, en comparación a hembras OVX sin E. Contrariamente a lo observado en el consumo de agua, la ovariectomía no afectó el consumo de sodio en nuestro modelo. Por otra parte, la ovariectomía redujo el número de receptores estrogénicos alfa en el MnPO. En conclusión nuestros resultados sugieren que los esteroides gonadales circulantes regulan la sed hipovolémica posiblemente a través de la modulación de receptores estrogénicos alfa localizados en el MnPO. Subsidiado por ANPCyT y CONICET.

POS 08-13

Role of ammonia and nitric oxide on the decrease of plasma prolactin levels in prehepatic portal hypertensive male rats. Andrea De Laurentiis[1], Camila Scorticati[1,2], Juan Perazzo[2], Valeria Rettori[1]. 1. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CEFYBO-CONICET-UBA, Fac. de Medicina, 2. Cátedra de Fisiopatología, Fac. de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina.

Rats with induced prehepatic portal hypertension (PH) are a model of porto-systemic hepatic encephalopathy (PSHE). Since very little is known about the neuroendocrine changes that occur in PSHE and considering that prolactin (PRL) plays an important role in the maintenance of homeostasis, in the present study we evaluated plasma PRL levels in adult Wistar male rat with PH and the involvement of ammonia, nitric oxide (NO) and dopamine (DA) in the control of PRL secretion in this model. We determined plasma PRL levels by RIA, DA and dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) content in medial basal hypothalamus (MBH) and anterior pituitary (AP) by HPLC. In addition, NO synthase (NOS) activity and protein expression were evaluated in AP by ^{14}C-Arginine method and Western blot respectively. Also, the AP from normal and PH rats were incubated under different concentrations of ammonia and/or a NOS inhibitor (L-NAME) and PRL secretion was determined. Our results showed that plasma PRL levels were significantly decreased in PH rats ($p<0.05$). However, we did not observe modifications in DA nor DOPAC content, neither DOPAC/DA ratio in both MBH and AP. The NOS activity ($p<0.01$) and it protein expression ($p<0.001$) were increased in AP from PH rats. The ammonia significantly reduced PRL secretion from AP in vitro ($p<0.01$). The presence of L-NAME abrogated the inhibitory effect of PH plus ammonia on PRL secretion. In conclusion we found that plasma PRL levels were decreased in PH rats, probably due to the high ammonia levels and the increase in NO production in AP, since NO inhibits PRL secretion from AP, it could act regardless of the participation of the dopaminergic system.

POS 08-14

Potenciacion del efecto de la hiperosmolaridad en neutrofilos por inhibidores de fosfodiesterasas. Miriam Giambelluca, Oscar A. Gende. Centro de Investigaciones Cardiovasculares, Facultad de Ciencias Médicas, Univ. Nacional de La Plata, Argentina.

Se ha observado que la infusión rápida de pequeños volúmenes de solución salina hipertónica, utilizada para la resucitación del shock hemorrágico, reduce la injuria por reperfusión postisquémica disminuyendo la activación de los neutrófilos. Para evaluar la participación de los nucleotidos cíclicos en este fenómeno se midió la atenuación de la señal de calcio provocada por quimiotácticos en neutrófilos en soluciones hipertónicas en presencia de inhibidores de fosfodiesterasa. La concentración de calcio citosólico ($[Ca^{2+}]i$) de los neutrófilos aislados se determino luego de la incubación con un indicador fluorescente (FURA 2 AM, 10μg/ml, 30min, 37 °C) en una solución salina con ($[Ca^{2+}]o$= 1mM. Luego de 10 min. de estabilización en solución isotónica ([ClNa]o=140mM) o hipertónica ([ClNa]o=240mM), los neutrófilos (un millón/ml) se estimularon con fMLP 0.1μM. Se determinó el cambio en la señal de calcio (integral desde el pico hasta los 100seg posteriores) en presencia de inhibidores de fosfodiesterasa. Estos experimentos mostraron que el efecto de la hiperosmolaridad (reducción de la señal al 93±6 %) es potenciado por teofilina 0.1 mM (reducción de la señal al 78±4 %), sugiriendo que en la depresión de la respuesta participa el AMPc. Estos cambios en la señal de calcio se traducen posteriormente en alteraciones de la función de los neutrófilos en condiciones de hiperosmolaridad.

POS 08-15

Participation of serotonergic mechanisms of the lateral parabrachial nucleus (LPBN) on the neurohypophysial hormonal responses and the hypothalamic neuronal activity following isotonic blood volume expansion (BVE). Lisandra Oliveira Margatho[1], Andrea Godino[2], Laura Vivas[2], Lucila Leico Kagohara Elias[1], Jose Antunes-Rodrigues[1]. 1 School of Medicine of Ribeirao Preto, University of Sao Paulo (USP), Sao Paulo,

Brazil. 2 Instituto de Investigacion Medica Mercedes y Martin Ferreyra, Cordoba, Argentina.

The present study investigated the involvement of serotonergic mechanisms of the LPBN in the control of oxytocin (OT), vasopressin (AVP) and atrial natriuretic peptide (ANP) plasma levels and on the neuronal activation of AVP and OT cells of the paraventricular (PVN) and supraoptic nucleus (SON), following isotonic BVE. Male Wistar rats bearing cannulas into the LPBN and a catheter inserted into the right atrium were used. The animals received LPBN injections of methysergide, DOI or vehicle. Thirty min after the injections into the LPBN, rats were subjected to BVE over 1 min. Rats were decapited 5 min afterwards, and the trunk blood collected for ANP, OT, and AVP plasma determination. In another group of rats, 90 min after BVE, the brains were perfused to identify double-labelled cells of c-Fos-OT or c-Fos-AVP, along the PVN and SON neurons. BVE induced an increase in plasma ANP and OT levels, which were reduced by methysergide into the LPBN and enhanced by previous administration of DOI into the LPBN. Methysergide into the LPBN increased plasma AVP in rats subjected to BVE. DOI into the LPBN produced an increase in the c-Fos-OT in the medial magnocelular part of the PVN and accessory nuclei. Methysergide into the LPBN induced an increase in the c-Fos-AVP in the lateral magnocellular part of the PVN and SON. The results suggest that the LPBN sertonergic system participates on the central neural network that integrates inputs induced by BVE, modulating the activity of oxytocinergic and vasopressinergic neurons. Supported by: FAPESP, CNPq, Faepa and Conicet.

POS 08-16

Evaluación de la rigidez arterial mediante Presurometría Ambulatoria de 24 horas en hombres y mujeres mayores de 40 años con o sin hipertensión nocturna. Santiago Perez-Lloret[1], Lucas Drucaroff[1], Daniel P. Cardinali[1], Ramiro Sanchez[2], Agustín Ramirez[2]. [1]Dto. de Fisiología, F. Medicina, UBA [2]Sección Hipertensión, ICYCC, F. Favaloro.

La hipertensión nocturna, el sexo masculino, la edad y la rigidez arterial son importantes factores de riesgo de morbi-mortalidad cardiovascular. El objetivo de este estudio fue comparar la rigidez arterial, medida por el Índice Ambulatorio de Rigidez arterial (Ambulatory Arterial Stiffness Index -AASI-) en hombres y mujeres a partir de la cuarta década con o sin hipertensión nocturna. Para ello, se realizó Presurometría Ambulatoria de 24 hs (MAPA) en 144 hombres y 137 mujeres mayores a 40 años. Se clasificó a los sujetos como hipertensos nocturnos (HTA-N) si las medias nocturnas de PAS/PAD > 120/70 (ESH). El AASI es un marcador dinámico de rigidez arterial que se calcula como 1 - la pendiente de la regresión entre los valores de PAS y PAD obtenidos en cada medición realizada durante el MAPA. Los resultados se analizaron mediante ANCOVA ajustando para PAM de 24 hs, tratamiento, altura y frecuencia cardiaca. 88 sujetos tenían entre 40 y 49 años de edad (Hombres: 53%), 98 tenían entre 50 y 59 años (H: 55%) y 95 tenían > 60 años (H: 45%). En hombres, la rigidez arterial se incrementó proporcionalmente con la edad (40-49 años: 0.22±0.02, 40-59 años: 0.27±0.03, >60 años: 0.38±0.02, p<.001), siendo superior en los HTA-N (0.33±0.02) en comparación con los normotensos nocturnos (0.24±0.02, p<.01), independientemente de la edad. En las mujeres los resultados fueron similares, sin embargo la diferencia entre HTA-N y normotensas nocturnas en el grupo etáreo de 50-59 años (0.47±0.06 vs 0.30±0.02, p<.05) y >60 (0.45±0.03 vs 0.33±0.03, p<.05) fue superior al observado en aquellas de 40-49 años (0.24±0.02 vs 0.29±0.05, p<.1). Estos resultados muestran que la rigidez arterial, evaluada mediante el AASI, fue significativamente mayor en la HTA-N, especialmente en las mujeres mayores a 50 años

POS 08-17

Vitamin E incubation partially restores aortic relaxation in pancreatectomized and fructose-fed rats. Carlos F. Reyes-Toso, Conrado R. Ricci, Marina L. Wallinger, Daniel Obaya-Naredo., Laura M. Linares, Lab. de Reactividad Vascular, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

Previously it was shown that rats with subtotal pancreatectomy (Ppx) or fed with a high fructose diet (Ff), exhibit a decreased acetylcholine-induced relaxation (Ach-IR). The effect was amplified by preincubation of aortic rings in a high (44 mmol/l) glucose solution, a situation that resulted in the production of oxidative stress. In the present work we study the effect of vitamin E -alfa tocopherol- (VE) on Ach response in intact aortic rings, or on sodium nitroprusside (SNP) response in endothelium-denuded rings obtained from rats with Ppx, sham-operated, Ff or fed with a normal diet. A relaxation of 60% or more to ACh was considered endothelium-intact, whereas relaxation of less than 5% was considered successfully denuded. Rings of thoracic aorta were placed in organ chambers and incubated in a Krebs solution with high glucose, and then isometric tension was recorded. Dose response curves to Phenylephrine and Ach were performed with and without VE (10^{-5} and 10^{-6} M) in the incubation media. Rings obtained from Ppx and Ff rats exhibited a decreased Ach-IR. Aortic rings from Ppx rats incubated with VE 10^{-5} and 10^{-6} M, showed an improved Ach-IR P< 0.01 two way ANOVA. Bonferroni post test: VE 10^{-5} vs Ppx: 10^{-8} 74.3 ± 4.49 vs 86.58 ± 2.31 (P< 0.01), 10^{-7} 54.12 ± 3.71 vs 65.75 ± 3.63 (P< 0.05), 10^{-4} 14.25 ± 1.42 vs 24.85 ± 1.70 (P< 0.05); VE 10^{-6} vs Ppx 10^{-8} 74.80 ± 3.03 vs 86.58 ± 2.31 (P< 0.01), 10^{-7} 55.51 ± 2.93 vs 65.75 ± 3.63 (P< 0.05), 10^{-6} 25.97 ± 1.37 vs 36.1 ± 1.92 (P< 0.05), 10^{-4} 14.89 ± 1.72 vs 24.85 ± 1.70 (P< 0.05). Ach-IR of aortic rings obtained from Ff rats was also restored when rings were incubated in the presence of VE 10^{-5} and 10^{-6} M (P< 0.01 two way ANOVA). Conclusions: The present work shows the beneficial effect

of VE incubation in reversing endothelial cell dysfunction due to oxidative stress "in vitro". Clinical implications must be assayed in further works.

POS 08-18

Dexamethasone alters vasomotor response to electrical field stimulation in mesenteric arteries from SHR rats. Role of noradrenaline and thromboxane A_2. Balfagón, G., Aras-López, R., Ferrer, M., Salaices, M. Depto de Fisiología. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, España.

This study examines the mechanisms involved in the decreased contractile response induced by electrical field stimulation (EFS) in dexamethasone-treated (DEX) mesenteric arteries from spontaneously hypertensive rats (SHR).The responses to: EFS adding either L-NAME (100μM) or Capsaicin (0.5μM), calcitonin gen-related peptide (CGRP) (0.1nM-0.1μM), sodium nitroprusside (SNP) (0.1nM-10μM) and noradrenaline (NA) (0.1nM-0.1μM) were analysed. The [^{3}H]-NA and thromboxane (TXA_2) release induced by EFS and COX-2 expression were studied, and the participation of TXA_2 in the decreased response to EFS was analysed in the presence of furegrelate (10μM). DEX did not affect vasomotor responses to NA, SNP or CGRP. The effect of DEX on EFS response was not affected by L-NAME or capsaicin and was reverted by furegrelate. DEX increased [^{3}H]-NA release and decreased COX-2 expression. The results indicate that the net effect of DEX is mediated by increased NA and decreased TXA_2 release. Sensory and nitrergic innervation did not seem to participate in the DEX effect. Key words: Dexamethasone, Hypertension. Supported by FIS (PI051767 and C03/01) and (SAF2005-05760).

POS 08-19

Efecto hipotensor de la gonadectomía prepuberal (Gx) en ratas SHR de distinto sexo. Interacción entre Aldosterona y Sistema kalikreína-kinina (SKK). Natalia Corbera, Pablo Azurmendi, Rodolfo Martin, Fernando Ibarra, Elisabet Oddo, Elvira Arrizurieta. Lab. Nefrología Experimental. IIM Alfredo Lanari., Fac. Med., UBA., Argentina.

Ratas espontáneamente hipertensas (SHR) desarrollan hipertensión arterial al alcanzar la edad adulta, llegando a las doce semanas de vida a tener 164.5±4.82 y 204.6±7.49 mmHg en ♀ y ♂, respectivamente. En esta cepa, el sistema vasodiltador kalikreína-kinina (SKK), estimado por la excreción de kalikreína urinaria (KU), se encuentra disminuído respecto a sus controles normotensos. La gonadectomía prepuberal induce, en estas ratas, un descenso de la presión arterial (PA) concomitante con un aumento de la KU y Aldosterona plasmática no acompañados por cambios en Corticosterona ni actividad renínica plasmática. Para dilucidar los mecanismos involucrados en los hallazgos mencionados se estudió el efecto de bloqueantes de KU (Aprotinina, A) y del receptor de Aldosterona (Espironolactona, E) en 40 SHR de distinto sexo intactas y Gx obteniéndose los siguientes resultados: el descenso de la PA inducido por la Gx fue revertido tanto por A como por E, en ♂ y ♀ (♂: 204.6±7.49; ♂Gx: 151.6±4.49; ♂GxA: 184±9.54 y ♂ GxE:196.8±12.41 y ♀: 164.5±4.82; ♀ Gx 146±5.03; ♀GxA: 184±9.54 y ♀GxE: 183.2±5.11). El tratamiento con Aprotinina descendió a niveles normales la concentración plasmática de Aldosterona en los animales Gx y a cifras no dosables la KU mientras que, E redujo la KU (nkat/d) de 91.4±5.73 a 18.5±2.31 y de 89.4± a 10.7±1.6 en ratas Gx ♀ y ♂, respectivamente. El aumento de la Aldosterona plasmática, encontrado post gonadectomía prepuberal, interactuaría con el SKK induciendo un efecto hipotensor, tal vez mediado por un aumento en la síntesis y/o liberación de kalikreína renal.

POS 08-20

Role of β_1- or β_2-adrenergic receptors in the vascular reactivity of mice aorta. Davel APC, Brum PC, Rossoni LV. Department of Physiology & Biophysics, ICB, USP, SP, Brazil.

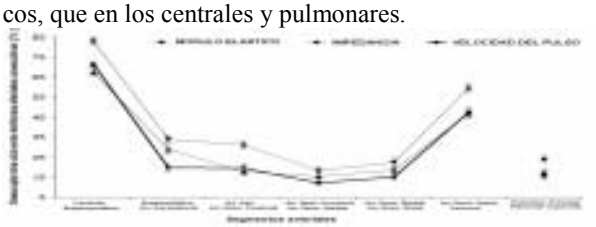
Introduction: β_1-, β_2- and β_3-adrenergic receptors (AR) are present in blood vessels and their activation leads to vascular smooth muscle relaxation and endothelial nitric oxide synthesis. Thus, our aim was to evaluate the vascular reactivity of aortic rings from knockout (KO) mice lacking β_1- or β_2-AR. *Methods*: 3-months-old male β_1- or β_2-KO mice and their respective wild-type (WT) C57BL/J6 or FVB/N (n=9 in each group) were studied. Relaxation to isoproterenol (ISO 10^{-9}-10^{-6}M) or acetylcholine (ACh 10^{-10}-10^{-4}M) and contraction to KCl (125 mM) or phenylephrine (PE 10^{-10}-10^{-4} M) were evaluated in thoracic aortic rings with (E+) and without (E-) endothelium. Heart ventricles were weighted to calculate ventricular mass index (heart/body weight). ANOVA or *t* test, *p<0.05. *Results*: ACh- and ISO-induced vasodilatation was similar between β_2-KO and its WT. However, β_1-KO showed a reduced maximal response (Rmax) to both agonists (ACh: -82 ± 6 vs -45 ± 6%* and ISO: -53 ± 6 vs -35 ± 5%*; WT vs β_1-KO respectively). KCl-induced contraction did not differ among all groups. Rmax to PE was increased in E+ rings from β_2-KO compared to WT (% of contraction to KCl: WT 110 ± 4 vs β_2-KO 131 ± 6%*). Lacking of β_1-AR did not modify PE response. E- increased PE contraction in all groups and abolish differences between β_2-KO and its WT. Ventricular mass index was increase in β_1KO mice while did not change in β_2KO compared with each WT. *Conclusions*: This study indicates that β_1KO mice showed bigger ventricular mass suggesting that others β-AR subtypes can be up-regulated and influence this effect. In aortic thoracic rings from mice, β_1-AR play a dominant role mediating vasodilatation in comparison to β_2-AR. On the other hand, β_2-AR seems to mainly modulate PE contraction, in an endothelium-dependent way.

POS 08-21

Caracterización de las diferencias regionales en los desacoples biomecánicos arteriales intra-ciclo. Ignacio Farro, Daniel Bia, Yanina Zó-

calo, Ricardo Armentano. Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina (Uruguay), FICEN, Universidad Favaloro (Bs.As, Argentina).

La presión(P)-dependencia de las propiedades mecánicas arteriales provoca que varíen durante cada eyección. Si los cambios entre segmentos arteriales (SA) contiguos no son proporcionales, podrían generarse desacoples biomecánicos (DB). El DB arteria-prótesis se asocia con la falla protésica por obstrucción, en arterias periféricas. Análogamente, potenciales diferencias regionales en DB durante la eyección podrían relacionarse con las diferencias regionales en la incidencia de patología obstructiva. Objetivo: Caracterizar el DB de SA contiguos, sistémicos y pulmonares, durante la eyección. Método: SA ovinos (n=11) de: carótida, braquiocefálico, aorta ascendente, descendente proximal, medial y distal, femoral, y pulmonar principal e izquierda se montaron en un simulador circulatorio. Se midió diámetro y P del SA, durante estados hemodinámicos simil-fisiológicos. Al inicio (IE) y fin (FE) de la eyección se calculó: módulo elástico, impedancia y velocidad del pulso. El DB de SA contiguos, se calculó como: $\Delta_{\%}$ IE-FE $SA_{proximal}$-$\Delta_{\%}$ FE-IE SA_{distal})/$\Delta_{\%}$ IE-FE $SA_{proximal}$. Resultados: Las máximas diferencias y DB estuvieron en los SA sistémicos periféricos (Gráfico). Esto y los bajos DB pulmonares podría vincularse con la mayor incidencia de obstrucción en SA sistémicos periféricos, que en los centrales y pulmonares.



POS 08-22

Influence of nitric oxide-mediated vasodilation on the blood pressure measured with the tail-cuff method in the rat. Mariana Fritz, Gustavo Rinaldi, Departamento de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Exactas, and Centro de Investigaciones Cardiovasculares, UNLP, CONICET, Argentina.

When monitoring blood pressure (BP) by the tail-cuff method two events can be measured: 1) disappearance of the pulse/flow signal during cuff inflation, and 2) its reappearance during deflation. Although the deflation reading is usually taken as the systolic BP, we found that it is lower than the value recorded during the inflation cycle. The deflation/inflation difference (D/I-Δ) is significant: -6 ± 1 mmHg in Wistar rats (n=58) and -16 ± 2 mmHg in SHR (n= 46) ($P<0.05$). When the inflation/deflation interval (and thus the ischemic period for the distal portion of the tail) was increased from 30 to 180 seconds the D/I-Δ increased to -17 ± 2 mmHg in Wistar and -24 ± 3 mmHg in SHR, indicating the probable accumulation of a vasodilator. After a two-week treatment with L-NAME (70 mg/kg. 24 Hr in the drinking water) the 180-sec reading was repeated and now the D/I-Δ was decreased to -5 ± 2 mmHg (NS vs. the 30-sec interval) in Wistar rats but it remained elevated in SHR (-19 ± 3 mmHg, $p<0.05$ vs. the 30-sec interval). In 11 additional, normotensive rats the BP was measured simultaneously by the tail-cuff method and by carotid cannulation, and it was found that the inflation reading was in closer agreement with the intraarterial systolic BP than the one obtained during deflation. Conclusions: 1) The BP estimated by the inflation cycle should be used preferentially, 2) Prolongation of the I/D cycle can induce abnormally low estimations of systolic BP if the deflation value is used, 3) In the Wistar rats this difference was caused by NO accumulation, since it was prevented by L-NAME treatment, and 4) In the SHR other local vasodilators are probably mediating this effect, since the D/I-Δ could not be eliminated by L-NAME treatment.

POS 08-23

Disfuncion endotelial generada por una dieta rica en colesterol: papel de productos de la ciclooxigenasa. S.Jerez, L.Sierra, C.Guardia, A.Coviello y M. Peral de Bruno. Fac. Ciencias Naturales y Fac de Medicina-UNT-Depto de Bioingeniería (INSIBIO-CONICET). Tucumán.

La hipercolesterolemia es un factor de riesgo mayor de enfermedades cardiovasculares que produce alteraciones en la función endotelial creando un disbalance en la regulación del tono vascular. Objetivo: establecer el papel de los productos de la ciclooxigenasa (COX) en la disfunción endotelial y el aumento de reactividad a la angiotensina II (Ang II) observado previamente en conejos hipercolesterolémicos. Metodos: conejos machos fueron alimentados 6-7 semanas con una dieta rica en colesterol al 1% (DH) o con una dieta control (DC). Se midió PAM, CT, LDL, HDL y TG. Se separó la aorta torácica para medir contractilidad in vitro y potenciales de membrana en reposo (Pm). Se determinó la liberación de nitritos mediante reactivo de Griess. Para evaluar el papel de prostanoides en: A) la disfunción endotelial: se estimuló con noradrenalina y se realizó una curva a Ach, en presencia o ausencia (control) de indometacina o tempol. B) el incremento en la reactividad a Ang II: se realizó una curva a Ang II, en presencia o ausencia de indometacina, tempol o DFI. Asimismo se realizaron mediciones de Pm en presencia o ausencia de indometacina antes y después de estimular con Ang II. Resultados: no hubo diferencias en PAM entre conejos con DC y DH. Los conejos con DH presentaron valores de CT y LDL mayores que los conejos con DC. La producción de nitritos y el % de relajación a Ach fue menor en conejos con DH. Este fenómeno fue revertido por indometacina, pero no por tempol. El incremento en la respuesta a Ang II en conejos con DH fue bloqueado por indometacina, tempol y DFI. El Pm fue menos negativo en conejos con DH, efecto que no fue modificado por indometacina. Conclusiones: Una dieta rica en colesterol generó una disfunción endotelial en la que estaría involucrado un producto de la COX que interferiría con la producción de NO. La disminución de NO generaría aumento de los radicales libres producidos por Ang

II a través de la NADPH oxidasa y de la respuesta contráctil al péptido.

POS 08-24

Influencia de la deficiencia de zinc en la programación fetal de la hipertensión arterial. Prentki Santos E, Tomat A, Gonzalez Vicente A, Weisstaub A, Caniffi C, López Ferrucci D, Zago V, Balaszczuk A, Costa A, Arranz C. Cátedra de Fisiología y Nutrición. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. IQUIMEFA-CONICET. Buenos Aires. Argentina

Se estudió la influencia de la deficiencia de zinc durante la vida fetal y crecimiento sobre la presión arterial, la actividad vascular y cardiaca de la óxido nítrico sintasa (NOS) y el perfil lipídico en la rata adulta. Ratas Wistar recibieron desde el inicio de la preñez y hasta el destete: Dieta baja (B; 8 ppm zinc) o control (C; 30 ppm zinc). Las crías machos recién destetados de cada grupo de madres continuaron con: dieta baja (Cb y Bb) o control (Cc y Bc) durante 60 días. Se determinó el peso al nacer y al finalizar el periodo experimental: presión sistólica (PAS), triglicéridos plasmáticos (TG) y actividad NOS en aorta, ventrículo y aurícula. Las crías de madres B presentaron menores pesos al nacer que las de madres C (C: 7.3±0.1; B: 6.7±0.1g) *p<0.01 vs Cc; $^{\&}$p<0.01vs Bc

Grupo	PAS (mmHg)	TG (mg/dl)	Aorta NOS(pg/g)	Ventrículo NOS (pg/g)	Aurícula NOS (pg/g)
Cc	126±3	157±6	229±6	196.3±2.9	216.7±3.7
Cb	147±3*	214±13*$^{\&}$	157±7*	147.8±4.7*	164.4±6.2*
Bb	142±3*	190±12*$^{\&}$	165±8*	148.2±3.1*	167.5±5.9*
Bc	152±3*	142±5	152±11*	139.2±7.2*	157.8±9.5*

La disminución del peso al nacer presenta una correlación negativa con la PAS a los 60 días (r^2: 0,8195). El aumento de la PAS observado en CB, BB y BC está asociado a una disminución de la actividad de la NOS vascular y cardiaca. El aumento de TG dependerían principalmente del aporte insuficiente de zinc durante el crecimiento. La programación fetal, inducida por la deficiencia de zinc, establecería modificaciones en la presión arterial y en el sistema del NO vascular aún mucho tiempo después de haber cesado la injuria nutricional que la desencadenó.

POS 08- 25

Perfil oxidativo cardíaco de ratos tratados cronicamente com metionina. Roberta Hack Mendes, Renata Goulart, Gabriela Czar, Adriane Belló-Klein, Katya Vianna Rigatto, Maria Claúdia Irigoyen. Laboratório de Fisiologia Cardiovascular-UFRGS-POA-RS. Unidade de Hipertensão, InCor, FMUSP, SP e Laboratório de Fisiologia Cardiovascular e Endócrino, FFFCMPA-POA-RS.

Introdução: Diversos estudos evidenciam a homocisteína como fator de risco independente para doenças cardiovasculares. A homocisteína é metabolizada a partir da metionina e o excesso desse aminoácido pode ser prejudicial ao organismo. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar (n=12) com peso de 250 g divididos em 3 grupos experimentais: Metionina que recebeu gavagem diária de metionina (0,1 g/ kg de peso de rato); Controle que recebeu gavagem de igual volume de água de torneira e "Naive" que não sofreu intervenção. Os animais foram tratados por oito semanas e recebiam água e comida *ad libitum*. No final do tratamento, os animais foram decapitados e tiveram o coração retirado e homogeneizado para posteriores análises da atividade das enzimas catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), lipoperoxidação pelo método de quimi-luminescência (QL), carbonilas, substâncias reativas ao ácido tiobarbuturico (TBARS) e nitratos totais. Para análise estatística dos dados foi utilizado teste Anova para medidas repetidas complementado pelo teste de Tukey. **Resultados:** A atividade da CAT apresentou 71% maior no grupo Metionina quando comparado ao Controle. A atividade da SOD foi 51% maior quando comparada ao grupo controle (p<0,01) e 32% maior em relação ao grupo Naive (p<0,05). Os nitratos totais apresentaram redução de 23% no grupo Metionina quando comparado ao controle (p< 0,05). **Conclusões:** Os dados são preliminares e mostram uma redução de NO que pode indicar dano a função miocárdica e aumento de estresse oxidativo. As medidas de lipoperoxidação indicam que o sistema enzimático parece compensar o dano oxidativo, pois as atividades da SOD e CAT estão aumentadas.

POS 08-26

Exercício concêntrico exaustivo e a Resposta do Sistema de defesa antioxidante. Rozangela Verlengia[1]; Luis Felipe Milano Teixeira[1]; Marisa Pires de Melo; Luciana Chagas Caperuto[3]; Silvana Bordin[3]; Roberto Vazatta[1,2]; Sérgio Paulo de Tarso Domingues[1,2]; Eduardo Borges[1,2] Adrianne Christine Palanch[1]; Cláudia Regina Cavaglieri[1]. [1] Núcleo de Performance Humana - Mestrado em Educação Física, FACIS-UNIMEP, Piracicaba - SP, Brasil. [2]UIRAPURU SUPERIOR-NEPECE; [3]Departamento de Fisiologia e Biofísica do ICB-USP-Brasil.

Considerando a presença de diferentes tipos de fibras com características fisiológicas e bioquímicas distintas e o fato de que os exercícios com contração excêntrica são potencialmente mais lesivos em comparação com os exercícios de contração concêntrica, a resposta de defesa antioxidante (AOX) sofre a interferência do tipo de exercício, bem como do tipo de fibra. O objetivo do estudo foi avaliar a resposta da atividade e da expressão gênica das enzimas AOX em diferentes períodos após sessão única de exercício exaustivo. Ratos Wistar machos foram submetidos à protocolo de exercício exaustivo (corrida em esteira com inclinação). Os animais (n=6) foram sacrificados nos intervalos de: 0, 1, 2, 4 e 8 horas após o término do exercício e os músculos sóleo e EDL foram removidos. A atividade enzimática foi determinada por espectrofotômetria e a expressão gênica por RT-PCR. Os dados são apresentados em relação ao grupo controle (sem exercício). Os resultados indicam que para o sóleo houve aumento (p<0,05) na

atividade da glutationa redutase nos períodos de 4 h (26%) e 8 h (16%) e diminuição na atividade da SOD total imediato (18,2%) e 8 h (9%) e a expressão da SOD-CuZn aumentou 38,1% (1 h) e 39,2% (8 h). No EDL observamos redução ($p<0,05$) na atividade da GTx 1h (32,2%), 2h (54,9%), 4h (5,9%) e 8h (21,7%) e redução de 41,3% no mRNA da GTx. Em conclusão, o exercício proposto promoveu alterações diferenciadas na atividade e na expressão gênica das enzimas AOX quando da comparação dos diferentes tipos de fibra. Um provável aumento de peróxido nitrito ocorreu no músculo sóleo, com inibição da SOD. Já no músculo EDL, uma via de inibição é observada com reflexo para glutationa. Apoio Financeiro: FAPESP e Fundo de Apoio a Pesquisa-UNIMEP.

POS 09
Sistema olfativo
Olfactory system

POS 09-01

Efectos a corto plazo de las Endotelinas sobre la actividad y expresión de la Tirosina Hidroxilasa en Bulbo Olfatorio de rata. Sabrina Nabhen, Guadalupe Perfume, Agustina Batistone, Liliana Bianciotti, Marcelo Vatta, Cátedras de Fisiología, (IQUIMEFA-CONICET) y Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

En el presente trabajo se estudiaron los efectos a corto plazo de la ET-1 y la ET-3 (10nM) sobre la actividad y expresión de la Tirosina Hidroxilasa (TH) en bulbo olfatorio (BO) de rata. Los bulbos olfatorios se incubaron con ET-1 y ET-3 durante 30 min. en presencia y ausencia de los antagonistas de los receptores ETA y ETB (100nM BQ-610 y BQ-788, respectivamente), de los agonistas de los mismos (300nM sarafotoxina 6b y 1uM IRL-1620) y de los inhibidores de las vías intracelulares. La actividad enzimática se determinó por método radioenzimático y los niveles de TH total por Western Blot (% vs. Control; ANOVA; test de Student-Newman-Keuls). Los resultados muestran que la ET-1 y 3 incrementan la actividad de TH (24% y 42% respectivamente, $p<0.05$) sin modificar la expresión de la TH total. El efecto de las ETs sobre la actividad se bloqueó por los antagonistas BQ-610 y BQ-788, sin embargo los agonistas sarafotoxina 6b e IRL-1620 no produjeron ningún efecto sobre dicha actividad. Por otra parte el U73122 (10uM) y H89 (500nM), inhibidor de la PLC y de la PKA, respectivamente, bloquearon el efecto de ambas ETs. Estos resultados sugieren que las ETs podrían actuar a través de un receptor atípico del subtipo ET_{AX} / ET_{BX} o por medio de un subtipo denominado ET_C y que el incremento de actividad de la TH podría deberse a la activación de la enzima inactiva, posiblemente por un aumento en sus niveles de fosforilación. El bloqueo observado con los inhibidores de la vía de los fosfoinosítidos y la del AMPc/PKA sugiere que ambas vías estarían involucradas en la respuesta a las ETs observada sobre la actividad de TH. Estos resultados muestran una clara interacción entre las ETs, la transmisión catecolaminérgica y los BOs.

POS 09-02

Migraciones neuronales tempranas en el desarrollo del sistema olfativo.

Fernando García-Moreno, María Laura Ceci, Laura López-Mascaraque, Juan A. de Carlos. Depto de Neurobiología del Desarrollo, Instituto Cajal (CSIC), Madrid, España.

Durante el desarrollo temprano del telencéfalo, diversas poblaciones celulares migran tangencialmente a lo largo de diferentes sendas para alcanzar sus destinos finales. Entre estas poblaciones celulares, algunas de las rutas migratorias más tempranas convergen en diferentes partes del sistema olfativo, como son el bulbo olfativo y la corteza piriforme. Para analizar los orígenes y las rutas migratorias que usan estas células, realizamos inyecciones de trazadores en diferentes áreas de la zona ventricular germinativa telencefálica, y las combinamos con immunohistoquímica, en embriones de ratón tempranos (E10-E12) que posteriormente eran cultivados *in toto* durante 24 horas. Encontramos diversas áreas germinativas que dan lugar a neuronas tempranas relacionadas con el sistema olfativo. Así, las células originadas en la eminencia ganglionar lateral (EGL) migran en abanico para alcanzar la corteza piriforme. Además, células originadas en la porción rostral de la eminencia ganglionar lateral (EGLr) migran tangencialmente hasta la región más anterior del telencéfalo, a la altura donde se va a desarrollar el bulbo olfativo, pasando a través de la corteza piriforme rostral. Algunas neuronas migran hacia la corteza piriforme procedentes del área rostral del telencéfalo dorsal (TDR) y desde el área rostromedial del muro telencefálico (RMMT). Finalmente, algunas células originadas en el polo rostral del telencéfalo (PRT) alcanzan la corteza piriforme migrando rostro-caudalmente. Cada una de estas cinco poblaciones migratorias de células ha sido caracterizada immunohistoquímicamente. Este trabajo ha sido financiado con el Proyecto BFI2003-00139 del Ministerio de Educación y Ciencia español.

POS 09-03

Olfactory Brain Areas in the Pintado Catfish, *Pseudoplatystoma coruscans*. Percília Cardoso Giaquinto and Anette Hoffmann. Physiology Department, Faculty of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo - FMRP/USP, 14049-900, Ribeirão Preto, SP - Brazil. Tel.:(55)166023199; email: percilia@rfi.fmrp.usp.br

The dextran amine (BDA) was used in *in vivo* experiments to comprehensively analyze the connections of the olfactory bulbs with the different regions of the ventral (V) and dorsal (D) areas of the telencephalic lobes of the catfish *Pseudoplatystoma corruscans*. With this goal, BDA was applied to the different telencephalic nuclei and zones, as well as to the olfactory bulb of juvenile pintado. *P. corruscans* olfactory signals drift through medial and lateral olfactory tracts to the ventral and dorsal areas of the ipsi and contralateral telencephalon as well as to the contralateral bulb. The

olfactory bulbs maintain reciprocal connections with several regions of the telencephalon [ventral nucleus of V (Vv - ventral area of the ventral telencephalic area) and Dl-v (ventrolateral region of the dorsal telencephalic area), posterior zone of D (posterior area of the dorsal telencephalon - Dp - with heavy olfactory projections to dorsal region, Dd, plus dorsolateral region of the dorsal telencephalic, Dl-d)], and also project to the diencephalon (posterior hypothalamic lobe). Dp and Dl appear to represent the secondary olfactory integration centers of the pintado dorsal telencephalon (pallial olfactory regions). Medial area of the dorsal telencephalon, Dm, is also suggested as an olfactory processing area in pintado. Dm and Dl nuclei have been described as homologous to mammal's amigdala and hippocampus, respectively, which can be responsible for olfactory memory. Extra-telencephalic connection was also found with the habenular nuclei, which is linked to the pineal organ. The results presented here, reveal a complex olfactory connectional pattern of *P. coruscans* telencephalon, most of these connections having not been described previously in pimelodides.

POS 10
Fisiología del stress
Stress Physiology

POS 10-01

Effect of glycirrhetinic acid on activation of hepatic 11 beta hydroxisteroid dishydrogenase 1 (HSD1) produced by stress and its repercussion on glucemia. Altuna, María Eugenia; San Martín de Viale, Leonor; Damasco, María Cristina. CONICET. Dept. of Biochemistry., FCEyN. UBA.

In former studies, we observed that stress produced an increase in hepatic HSD1 activity, altering hydrocarbonate metabolism. With the aim of evaluating whether these alterations were due to the activation of HSD1, we studied the effect of glycirrhetinic acid (GA), an inhibitor of these enzymes, on the activity of HSD1 in stressed and control animals and its relation to glucemia. We used the following groups of rats to study hepatic HSD1 activity by incubating microsomes in the presence of H^3 corticosterone and 5μM of cold corticosterone; we also measured the glucemia. Group A: Control; Group B: Control + GA; Group C: Stressed and Group D: Stressed + GA. For HSD1 we observed that the stress increased by 55% in comparison to the control group. The GA decreased HSD1activity by 25% in the control group and by 34% in the stressed group when these groups were compared to the control group without GA. In stressed animals, GA decreased the activity of HSD1 by 57% compared to the stressed control group. The glucemia, which increased in stressed animals by 56%, reverted this situation when animals were treated previously with GA, decreasing glucemia by 34% compared to stressed control animals. Conclusions: HSD1 activity is directly involved in the regulation of hydrocarbonate metabolism, even in situations in which this metabolism is altered by stress.

POS 10-02

Influencia de la adrenalectomía sobre la densidad del receptor 5-HT_{1A} en ratas estresadas. Alfredo Briones-Aranda[1], Mariano Salazar Castillo[2], Ofir Picazo[2], Luisa Rocha[3], [1]Facultad de Medicina Humana de la UNACH, [2]Escuela Superior de Medicina del I.P.N., [3]CINVESTAV-I.P.N. México.

Es bien conocido que los glucocorticoides pueden influir en la síntesis del receptor 5-HT_{1A} principalmente en la región hipocampal de las ratas. Además se sabe que diversos factores estresantes incluyendo el nado forzado (NF) están relacionados con un aumento en la concentración de corticoides. Por lo anterior, en este protocolo se estudió la influencia que tienen 15 min. de NF sobre la expresión del receptor 5-HT_{1A} en diversas regiones del hipocampo de ratas adrenalectomizadas (ADX). Se utilizaron ratas macho de la cepa Wistar de 200 a 250 gr de peso, las cuales se alojaron en grupos de 7 animales bajo condiciones invertidas de luz-oscuridad y con libre acceso a comida y agua. El primer grupo fue operado falsamente, el segundo grupo incluyó ratas ADX, ambos grupos fueron sacrificados 24 horas después del estrés. El tercero y cuarto grupo se estudiaron bajo similares condiciones experimentales pero sin haber pasado por la prueba estresante. Los cerebros de todos los animales fueron estudiados mediante autorradiografía, utilizando un ligando radioactivo del receptor 5-HT_{1A} (el H^3 8-OH-DPAT) para marcar a los receptores 5-HT_{1A}.En las regiones CA2 y CA3 de los animales previamente estresados y con ADX, se observó una disminución en la densidad del receptor 5-HT_{1A} cuando se comparó con el grupo de animales ADX y sin NF. Por lo anterior, la disminución en la densidad del receptor 5-HT_{1A} en algunas regiones hipocampales después del NF no solamente puede estar relacionada con el incremento de glucocorticoides, sino también con otros factores tales como la concentración de 5-HT. Agradecimientos: UNACH, SIP-IPN y COFAA

POS 10-03

Influence of anxiety and menstrual cycle on halitosis: sex related differences. Calil MC, Marcondes FK. Physiological Sciences Department, Dental School of Piracicaba, UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil.

It has been observed that dental patients show an increase of bad breath during stressful life periods and also through women's menstrual cycle without clinical oral diseases. The aim of this study was to evaluate the effect of an anxiogenic experimental situation on the production of volatile sulfur compounds (VSC), which are the main components of bad breath. After approval by the ethics committee, seventeen men and sixteen women with good oral and general health were submitted to the Video-Recorded Stroop Color-Word-Test (VRSCWT) used to elicit anxiety. In women, the test was performed on the pre-menstrual (PM), menstrual (M) and follicular (F) phases of their regular reproductive cycles. The VSC (ppb-halimeter), salivary flow (mL/min) and total protein salivary concentration (mg/mL) measurements were performed before (B-basal situation) and after (A) the VRSCWT. Data were compared by Analysis of Variance and pared test-t student. During basal situation, VSC was higher during the M (131±14) and PM (124±15) phases when compared to men (85±15) and women in F (123±15) phase ($p<0,05$). Women during PM (0.26±0.04) presented lower salivary flow than M (0.31±0.04), F (0.33±0.05) phases and also compared to men (0.40±0.04). Total salivary protein concentration was higher in men (1.00±0.18) as

compared to women in any menstrual phase (M=0.77±0.12; PM=0.71±0.06; F=0.78±0.18). In men, the VRSCWT induced an increase in oral concentration of VSC (97±11) without changes in salivary flow (0.40±0.03) and protein concentration (1.00±0.06). On the contrary, in women, no differences in oral VSC, salivary flow and protein concentration were observed after the application of the VRSCWT ($p>0.05$). The results of the present study showed that, in men, the anxiety might contribute to halitosis. Also, the hormonal status of men and women might be involved on the development of oral malodor and this process could be associated with salivary protein but not with salivary flow.

POS 10-04

Chronic stress promotes tumor growth through depression of antitumoral T-cell mediated immunity. Luciana Frick[1], María LBarreiro Arcos[1], Horacio Torti[2], Claudia Mongini[1], Ana M Genaro[1,2] and Graciela Cremaschi[1,2]. CEFYBO-CONICET y Cát Física, FFyB-UBA, Argentina.

A growing body of evidence indicates that stress is a key factor in the development of several pathologies. It has been reported that chronic, but not acute exposure to stress impairs the immune response. Thyroid hormones and zinc also participate in the control of the immune system. It is suggested that there is comorbidity between stress and cancer; however this hypothesis has not been further tested. The aim of this work was to study the effect of stress in the immune function and the evolution of tumors, and the participation of zinc mineral balance and thyroid axis in this effect. Female BALB/c mice were subjected to chronic restraint stress for three weeks. In order to evaluate the status of the immune response in normal and stressed animals, lymphocyte proliferation to both T and B selective mitogens was evaluated by [^{3}H]-thymidine incorporation. A significant reduction in T cell proliferation was observed in stressed animals, whereas B cell proliferation was unchanged. Thyroid status was evaluated by measuring hormone levels in serum. Both T3 and T4 levels, determined by RIA, were reduced in stressed animals in comparison to controls. In order to evaluate the mineral balance in normal and stressed animals, zinc levels were measured by atomic absorption in mineralized femurs. Zinc levels were lower in femurs of stressed animals than in their normal counterparts. Stressed and normal syngeneic mice were injected subcutaneously with $1x10^6$ LBC T lymphoma cells to generate a solid tumor. Measures of tumor volume indicated that growth is increased in chronically stressed mice as compared to control animals. Additionally, stressed mice displayed an accelerated death rate, indicating a worst prognosis of the neoplasic pathology. Taken together, these results suggest that chronic stress promotes tumor growth by depressing T-cell mediated immunity and that the zinc deficiency-related hypothyroidism would probably contribute to these effects.

POS 10-05

Oxidative stress and tamoxifen in breast cancer. Miler Eliana, Ríos de Molina, Ma del Carmen, Guerra Liliana Dep. Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA.

Tamoxifen (TAM) has been used extensively for the treatment of breast cancer, TAM exerts its antiproliferative action by binding competitively to estrogen receptor (ER) and blocking the mitogenic effect of estradiol. Nevertheless, TAM has also been shown to be cytotoxic in both ER-positive and ER-negative cells. In order to better understand the mechanism underlying this antiproliferative action of TAM in tumors cells we decided to study the relationship of TAM and oxidative metabolism in breast cancer. As a first approach we treated ER-positive cells (T47D) with 10 uM tamoxifen (TAM 10) or 20 uM tamoxifen (TAM 20) and determined a) malondialdehyde (MDA), as a lipoperoxidation marker; b) glutathione (GSH and GSSG); c) superoxide dismutase (SOD) activity, d) glutathione peroxidase (GPx) activity and d) apoptosis by acridine orange - ethidium bromide technique. Both treatments (TAM 10 and TAM 20) increased: a) significantly MDA levels (vehicle: 0.11 ± 0.01 vs TAM 10: 0.50 ± 0.05 nmol/mg protein, $p< 0.01$; vehicle vs TAM 20: 1.77 ± 0.18 nmol/mg protein, $p<0.01$); b) GSSG levels (vehicle: 0.064 ± 0.010 vs TAM 10: 0.137 ± 0.014 pmol GSSG/ug protein $p<0.01$; vehicle vs TAM 20: 0.237 ± 0.024 pmol GSSG/ug protein, $p<0.01$); c) SOD activity (vehicle:1.99 ± 0.2 vs TAM 10: 2.96 ± 0.23 U/mg protein, $p<0.01$; vehicle vs TAM20: 8.77 ± 0.30 U/mg protein $p<0.01$); d) GPx activity (vehicle: 75.1 ± 2.5 vs TAM 10: 147.3 ± 4.5 uU/mg protein, $p< 0.01$; vehicle vs TAM20: 169.3 ± 3.7 uU/mg protein, $p<0.01$). Neither TAM 10 nor TAM 20 modified GSH levels (vehicle: 0.45 ± 0.3; TAM 10: 0.51 ± 0.09; TAM 20: 0.53 ± 0.03 pmol/ug protein). Only TAM 20 showed almost 15% of apoptotic cells. These results demonstrate that tamoxifen could induce oxidative stress in this breast cancer cell line; antioxidant enzymes activities are not enough to avoid the oxidative damage, since apoptosis overcome at TAM 20.

POS 10-06

Glutamine Action in the experimental colitis. Kretzmann Filho N.A., Fillmann, H., Silveira T., N. Marroni, N. PPG-Fisiologia UFRGS, Lab. of experimental Fisiology and Hepatology-HCPA and Oxidative Stress, ULBRA.

We evaluated the modifications in oxidative stress present in rats pre-treated with glutamine submitted to experimental colitis. Used 20 male Wistar rats, weight of±300g. The animals were divided in 4 groups: I control (CO) n=6, II colitis (CL) n=6, and III control+glutamine (G) n=4, IV colitis+glutamine (G+CL) n=4. To induce colitis we used acetic acid 7% enema. Glutamine 25 mg/kg was administered by the same way. The lipoperoxidation(LPO)was evaluated by chemiluminescence(QL)cpm/mg protein. We also evaluated the glutathione peroxidase(GPx) activity and

p65 nuclear expression. For statistical analysis we used the Newman Keuls' test, p<0,05. The QL in CL increased when compared to the CO, (CO 608,59±38,10 X CL 1604,66±147,98). The group G+CL demonstrated a reduction when compared to group CL, (CL 1604,66±147,980 X G+CL 643,71±96,47). The p65 expression in group CL increased when compared to CO, (CO 0,561±0,01 X CL 0,843±0,016). The group G+CL demonstrated a reduction when compared to group CL, (CL 0,843±0,016 X G+CL 0,507±0,03).The GPx activity in group CL decreased when compared to the CO, (CO 0,282±0,093 X CL 0,226±0,050). The group G+CL demonstrated an increased in GPx activity when compared to group CL, (CL 0,226±0,050 X G+CL 0,308±0,027). The group G remained the same comparing to the CO for all parameters. These results suggest that the colitis induced by acetic acid increase LPO, p65 expression and decreased the GPx activity. The pre-treatment with glutamine increases the GPx activity, decreased the p65 expression and reduces LPO. Financial Support: FIPE.

POS 10-07

Participación de la CPFm en la hiporrespuesta al estrés de ratas lactantes y gestantes. Cárdenas-Morales BE[1], Kendrick KM[2], Jiménez B[3], Donatti O[3], Guevara-Guzmán R[3]. [1]Fac de Medicina y Cirugía, Univ Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca. [2]Babraham Institute, Cambridge UK. [3]Depto de Fisiología, Fac de Medicina UNAM.

Introducción. La lactancia y la gestación son procesos fisiológicos vitales para la supervivencia de los mamíferos, durante los cuales se ha observado que disminuye la respuesta neuroendócrina al estrés. El NPV es considerado el centro integrador de dicha respuesta regulando la actividad del eje HPA, y la CPFm probablemente ejerza un efecto modulador sobre el NPV, por medio de interacciones entre el sistema dopaminérgico mesocortical y los circuitos locales gabaérgicos y glutamatérgicos. Objetivo: Analizar la participación de los sistemas gabaérgico, glutamatérgico y dopaminérgico de la CPFm en ratas lactantes y gestantes bajo el modelo de estrés por inmovilización. Materiales y Métodos: Utilizamos 3 grupos experimentales y 3 controles de seis ratas Wistar cada uno: vírgenes adultas, gestantes a término y lactantes tempranas. Las experimentales se sometieron a estrés por inmovilización durante 30 min.; luego se anestesiaron, perfundieron y sus cerebros se procesaron con IHQ para detección de receptores D_1 (D1DR) en la CPFm. La liberación de GABA, glutamato y dopamina en la CPFm de 8 ratas (4 vírgenes y 4 lactantes) se midió con microdiálisis y HPLC. Resultados: Se evaluó la expresión de D1DR y la liberación de GABA, glutamato y dopamina en las áreas cingulada dorsal anterior (ACd), prelímbica (PL) e infralímbica (IL) de la CPFm, En las ratas vírgenes experimentales, la expresión de D1DR fue mayor en ACd que en IL y PL con predominio izquierdo, comparadas con los controles. En las gestantes y lactantes experimentales, no se encontraron diferencias. Los niveles de GABA en las ratas lactantes durante el estrés, fueron mayores que en las vírgenes; para dopamina y glutamato, los niveles fueron menores en las lactantes que en las vírgenes. Conclusión: Existe participación de los circuitos gabaérgicos, glutamatérgicos y dopaminérgicos de la CPFm en la hiporrespuesta al estrés de las ratas lactantes y gestantes. Apoyado por IN200502 y 220405.

POS 10-08

Lesão muscular e exercício concêntrico: Aspectos Histológicos em diferentes períodos pos-exercício. Lívia Lapin[1]; Estela Belivacqua[2]; Luis Cláudio Silva Tangerino[1]; Luis Felipe Teixeira[1]; Wagner Silva[1]; Adrianne Palanch[1]; Cláudia Cavaglieri[1]; Rozangela Verlengia[1]. [1] Núcleo de Performance Humana - Mestrado em Educação Física, Faculdade de Ciências da Saúde- UNIMEP, Piracicaba - SP, Brasil. [2] Laboratório de Biologia Trofoblasto, Departamento de Biologia do Trofoblasto, São Paulo, Brasil.

Introdução: Exercício não usual e ou extenuante promovem dano muscular apresentando-se como dor muscular, envolvendo degradação proteíca e alterações ultra-esturuturais. Dano muscular ocorre tardiamente após realização do exercício e não durante e/ou imediatamente; sendo denominado de danos musculares de início tardio. Contudo, alterações locais e períodos iniciais das alterações ultra-estruturais foram até o momento poucos exploradas, principalmente no exercício concêntrico considerado de baixo potencial lesivo. **Objetivo:** determinar regiões onde há alteração da permeabilidade vascular, modificações estruturais no músculo extensor longo dos dedos (EDL) de ratos após realização de exercício concêntrico exaustivo. **Metodologia:** 15 ratos da linhagem *Wistar* jovens com peso ± 280g submetidos a uma única sessão de exercício intenso até exaustão de forma concêntrica (corrida em esteira com velocidade 25m/min. e inclinação de 10º com duração média de 55 minutos). Avaliou-se a alteração da permeabilidade vascular pela administração de Azul de Evans via veia caudal, após 10 minutos o músculo foi removido e fotografado. Análise histológica foi realizada pela coloração de HE. Em ambas as análises os animais foram previamente anestesiados e os músculos retirados nos períodos imediatamente; 2, 3, 4 e 5 horas após o término do exercício exaustivo. **Resultados:** Alterações na permeabilidade vascular observadas em pontos definidos e aleatórios da região distal e proximal nos períodos 4 e 5 horas. Nos intervalos imediatamente, 2, 3 horas após o término do exercício observou-se manutenção das estruturas celulares quando comparado com o grupo controle (animais sedentários). Por outro lado, no período 5 horas evidencia-se presença de vasos dilatados com neutrófilos aderidos à parede endotelial, distanciamento entre fibras musculares e núcleos fortemente corados pela hematoxilina, lembrando núcleos de cromatina condensada. **Conclusão:** O exercício concêntrico induz alterações evidentes (permeabilidade vascular) na região distal, proximal e

alterações estruturais discretas, de resposta tardia. Apoio financeiro: FAPESP e Fundo Apoio a Pesquisa-UNIMEP

POS 10-09

Efeito da administração central de 2-desoxi-D-glicose (2-DG) e estreptozotocina (STZ) sobre a aquisição de esquiva em ratos submetidos ao labirinto em cruz elevado (LCE). Fabio Rodrigo Mesquita Borges, Rubia Battisti, Fernanda Cristina Cunha, Ana Isabel Penzlin, Isabel Cristina da Cunha, Luana Meneghini, Aparecida Márcia Lucinda, José Marino Neto, Marta Aparecida Paschoalini, Moacir Serralvo Faria. Departamento de Ciências Fisiológicas, CCB, UFSC, Florianópolis, SC, Brasil.

A glicose é importante em processos de aprendizagem e memória. Tem sido demonstrado que ratos re-expostos ao LCE, um modelo animal de ansiedade, exibem elevada esquiva dos braços abertos (BA), em relação à primeira exposição. Esse fato tem sido atribuído a uma aprendizagem emocional adquirida durante a primeira exposição ao LCE. Desse modo, é possível que a utilização de glicose seja igualmente importante na sustentação de processos mnemônicos no LCE. O presente estudo avaliou se a indução de estresse metabólico, pela administração intracerebroventricular de 2-DG (um análogo glicêmico, incapaz de participar do metabolismo da glicose) ou de STZ (antagonista insulínico), poderia prejudicar a aquisição de esquiva no LCE. Ratos *wistar* machos (250-350g) com cânula guia cronicamente implantada no ventrículo lateral esquerdo receberam uma microinjeção de salina (0.9%), 2-DG (10 e 20 µmol/10µL) ou STZ (2,2 e 4.4 mg/kg) durante 3 minutos sendo, imediatamente após, submetido ao LCE por 5 min. No dia seguinte, cada animal foi re-exposto ao LCE por 5 min. sem administração de drogas. Os resultados indicaram que ratos tratados com salina exibiram elevada esquiva dos BA durante a segunda exposição ao LCE, em relação à primeira, o que é indicativo da ocorrência de aprendizagem. Ao contrário, ratos tratados com 2-DG (20 µmol/10µL) e STZ (4.4 mg/kg), exibiram o mesmo nível de esquiva dos BA em ambas as exposições. Não houve prejuízo locomotor nas doses utilizadas em relação ao grupo tratado com salina. Os resultados indicam que a utilização de glicose no sistema nervoso central é importante para a aprendizagem emocional no LCE.

POS 10-10

Distintos tipos de estrés alteran de modo diferencial la secreción de PRL Mohn CE, De Laurentiis A, Prestifilippo JP, de la Cal C, Fernandez-Solari J, Bornstein SR, McCann SM, Rettori V. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET. Facultad de Medicina, Univ. De Buenos Aires, Argentina.

El estrés no solo induce la activación del eje HHA mediante la secreción de CRH y ACTH sino que también altera la secreción de PRL entre otros efectos. Cada vez son más las funciones atribuidas a la PRL que podrían ser clave en la homeostasis del organismo. Nuestro objetivo fue estudiar cómo distintos tipos de estrés alteran la secreción de PRL y los posibles mecanismos involucrados en la regulación de su secreción. Ratas macho Sprague Dawley (n=6-8/grupo) fueron sometidas a estrés por inmovilización (EI, 2h), alcoholizadas (ETOH, 3g/kg/1h) y a la combinación de ambos tipos de estrés (EtOH+EI) en forma aguda (única aplicación) o repetitivo (EIR 2 veces/día/5 días). Se midió la PRL (RIA) contenida y liberada por adenohipófisis (AH) en experimentos ex-vivos, así como en plasma. En los hipotálamos se midió la liberación y el contenido de DA (HPLC), y en las AH la actividad de la NOS (Arginina ^{14}C). La PRL plasmática se encontró aumentada en los animales con EI ($p<0.05$) y EtOH+EI ($p<0.001$) agudo, la actividad de la NOS en AH no varió respecto al control con el estrés agudo. Luego del estrés repetitivo hubo una disminución de la PRL plasmática ($p<0.001$) y disminución del contenido en AH ($p<0.001$) en todos los grupos respecto al control. La actividad de la NOS en las AH del estrés repetitivo aumentó en el grupo con EIR ($p<0.05$) y más aun en el grupo de EtOH+EIR ($p<0.001$). La liberación de DA hipotalámica aumentó en los grupos de EIR y EtOH+EIR ($p<0.001$). La secreción de PRL se encuentra aumentada en el estrés agudo y disminuida en el estrés repetitivo. La inhibición de la PRL plasmática en animales sometidos a estrés repetitivo podría deberse al aumento de la liberación de DA hipotalámica, como también al aumento de la actividad NOS en AH ya que ambos son factores reguladores negativos de la secreción de PRL. BID 1728 OC-AR, Pict 03-14264, PIP 6149.

POS 10-11

Prenatal stress improves behavioural tests performance in mice. Melatonin suppresses this effect Pallarés María E, Comastri Lucía, Schmukler Juan, Scacchi Pablo A, Bruno Verónica A, Cutrera Rodolfo A. Laboratorio de Neurobiología y Ritmos. Departamento de Fisiología. 6to piso Facultad de Medicina. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Stressful agent exposure during the latest weeks of gestation affects offspring´s nervous system development, producing long-term behavioral changes. Indeed, it has been demonstrated that Melatonin (MT) has neuroprotective properties. The aim of this study was to assess the effects of prenatal stress on descendant's behavior and to test the postulated role of MT in this model. Pregnant Swiss mice were subjected to 3 daily sessions of restraint stress since gestation day 15. MT was administered through the drinking water (25 mg/l) from 7th day of pregnancy until birth. Offspring´s neuromuscular coordination and exploratory activity were evaluated using the tight rope and T-Maze tests, respectively, at 30 and 60 days after birth. Data were analyzed using the Mann-Whitney test for tight rope results and Chi-square for T-maze ones. Animals that received prenatal stress (E) showed better performance in the tight rope test

during the 1st month of life (p=0.074) compared to the control group (C). This effect persisted in time and was more pronounced in females (p=0.001). Moreover, higher proportion of E group animals successfully completed the T-maze test than C group, both during the 1st (p=0.04) and 2nd (p=0.001) month. However, animals that received E+MT diminished performance in tight rope test, compared to E group (p=0.03); the exploratory activity was also less during the 1st (p=0.001) and 2nd (p=0.002) month. Our results suggest the existence of a beneficial effect of prenatal stress on neuromuscular development and a better response in presence of novel situations. Our results also demonstrate that MT suppress these effects, suggesting that the beneficial role proposed for MT is not observed, al least in these experimental conditions.

POS 10-12

Efeito da administração de um inibidor da síntese protéica sobre a memória emocional no labirinto em cruz elevado (LCE). Diana Yae Sakae, Fabio Rodrigo Mesquita Borges, José Marino Neto, Marta Aparecida Paschoalini, Moacir Serralvo Faria. Departamento de Ciências Fisiológicas, CCB, UFSC, Florianópolis, Brasil.

Tem sido demonstrado que drogas do tipo benzodiazepínicas (BDZ) são ineficazes em ratos com experiência prévia no LCE. Esse fato tem sido atribuído à aquisição de um tipo de medo que é insensível a drogas do tipo BDZ, ou seja, decorrente de um processo de aprendizagem/memória emocional. O presente estudo avaliou se a administração sistêmica de cicloheximide (CHM; um inibidor de síntese protéica) durante a primeira exposição ao LCE poderia restabelecer o efeito ansiolítico de drogas BDZ durante a re-exposição. Ratos Wistar machos (250-300g), receberam salina (SAL, 0.9%; n=18) ou CHM (1.0 mg/kg; n=20) por via *i.p*. e, após 30 min., foram expostos ao LCE por 5 min. No dia seguinte, cada grupo foi subdivido em outros dois, os quais receberam, por via *i.p*., salina (grupos SAL/SAL, n=9 e CHM/SAL, n=10) ou midazolam (MDZ, 1.0 mg/kg; grupos SAL/MDZ, n=9 e CHM/MDZ, n=10), 30 min. antes da re-exposição ao LCE. Os resultados demonstraram que durante a segunda exposição ao LCE, a administração de MDZ induziu um efeito do tipo ansiolítico, ou seja, aumentou na porcentagem de tempo de permanência nos braços abertos no grupo tratado com CHM previamente à primeira exposição ao LCE (13.9±3.9; grupo CHM/MDZ) em relação aos grupos CHM/SAL (2.45±1.28) e SAL/MDZ (4.26±1.56). Na re-exposição ao LCE, o tratamento com MDZ não alterou a atividade locomotora dos animais (grupos CHM/MDZ, n= 5.60±1.2 e SAL/MDZ, n= 6.33±1.0) em relação aos grupos tratados com salina (grupos CHM/SAL, n= 5.2±0.66 e SAL/SAL, n= 6.22±0.98). O presente estudo sugere que a memória emocional de ratos no LCE pode envolver síntese protéica, embora não seja possível afirmar se a síntese de tais proteínas esteja ocorrendo na fase de aquisição ou na fase de consolidação das informações adquiridas durante a primeira exposição ao LCE.

POS 10-13

Estresse agudo por contenção de 15 minutos altera a receptividade sexual em ratas. Ana Lúcia Cecconello, Kizzy Corezola, Vanise Sebben, Fernando Varani, Aldo Lucion, Gilberto Sanvitto. Depto. de Fisiologia do ICBS, UFRGS. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

O estresse crônico inibe a função reprodutiva, e esse efeito tem sido observado pela diminuição da secreção de gonadotrofinas e redução do comportamento sexual (CS) em diferentes paradigmas de estresse. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito do estresse agudo por contenção, na noite do proestro, sobre o CS de ratas. Foram utilizadas 30 ratas Wistar adultas, com pelo menos 3 ciclos estrais regulares, divididas em dois grupos experimentais: *Estresse (E)* e *Controle (C)*. Na noite do proestro, uma hora após o início do período escuro, as ratas foram mantidas totalmente imobilizadas dentro de um tubo cilíndrico de acrílico por 15 minutos (E) ou permaneceram na caixa-moradia pelo mesmo tempo (C). Imediatamente após, as fêmeas foram colocadas na presença de um macho sexualmente ativo, registrando-se o CS por 15 minutos. Foram observados: freqüência de lordose, freqüência de montas, duração de locomoção (medida em segundos) e, na manhã seguinte, o número de óvulos. Os dados foram analisados através do teste *t* de Student para amostras independentes, $p < 0,05$. Os dados estão expressos como média ± EPM. Houve redução significativa no quociente de lordose (freqüência de lordose/freqüência de montas) do grupo que foi submetido ao estresse (0,95 ± 0,02; n = 15) quando comparado com o grupo controle (0,47± 0,05; n = 15). Não houve diferença significativa entre os grupos para duração de locomoção, como também para o número de óvulos. O estresse agudo por contenção na noite do proestro inibe a receptividade sexual de ratas. Este efeito não se deve a uma inibição comportamental geral já que a locomoção não foi alterada. Além disso, o estresse por contenção na noite do proestro não altera o mecanismo que desencadeia a ovulação. Apoio Financeiro: CNPq.

POS 10-14

Efecto del estrés por restricción sobre la memoria en el laberinto elevado en T (LET) y el sistema noradrenérgico en el estriado dorsal. García-Saldívar, N. L., González-López, M. R. A., Magaña-Morales, P., Castillo-Roberto, G., Monroy, J. y Cruz-Morales, S. E. FES-Iztacala y FES-Zaragoza, UNAM.

El estriado dorsal participa en la ejecución de tareas que implican memoria procedural, lo que está vinculado con una vía que comunica la corteza prefrontal con el estriado. Existen resultados experimentales que muestran que el someter a estrés a un animal resulta en la liberación de noradrenalina (NA) en la corteza prefrontal, lo que se acompaña de deterioro de la memoria. El objetivo de

este estudio fue analizar el efecto del estrés por de restricción durante 15 min sobre la ejecución en el LET y la actividad noradrenérgica (ANA) en el estriado dorsal. Se utilizaron 3 grupos de 8 ratas: control, restricción y restricción+LET. La prueba del LET dura en promedio 5 min. Las ratas sometidas a restricción o restricción+LET fueron sacrificados inmediatamente después del procedimiento. Se extrajo el estriado dorsal y se midieron las concentraciones de NA y MHPG por HPLC, y a partir de los resultados se calculó la ANA como [MHPG]/[NA]. Los resultados conductuales mostraron amnesia del grupo sometido a restricción respecto al control ($p<0.01$). La concentración de NA fue mayor en el grupo con restricción+LET que en el control ($p<0.001$). La concentración de MHPG y la ANA fueron menores en los grupos con restricción que en el grupo control ($p<0.001$). El deterioro de la memoria acompañado de la disminución de la ANA en el estriado dorsal indicaría que el sistema noradrenérgico modula de manera excitatoria la memoria procedural. Apoyado por PAPIIT IN300806, UNAM.

POS 10-15

A ação da glutamina na gastropatia da hipertensão porta - Estudos Preliminares. Cíntia de David, Camila Ávila, Douglas Simonetto, Sílvia Bona, Cláudio Augusto Marroni, Norma Possa Marroni. Laboratório de Hepatologia Experimental/Fisiologia - HCPA/UFRGS e Estresse Oxidativo - ULBRA/FFFCMPA.

A gastropatia portal hipertensiva (GHP) é uma alteração decorrente da hipertensão portal, caracterizada por edema e hiperemia da mucosa gástrica. A glutamina, um aminoácido livre, é responsável por inúmeras funções em órgãos e células, dentre estas, servindo de substrato para a síntese de glutationa. Este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da glutamina na hipertensão portal, através do modelo de ligadura parcial de veia porta (LPVP). Foram utilizados ratos machos Wistar, pesando em média 300g, divididos em 3 grupos: Grupo 1. CO (Sham-operated): processo cirúrgico, com administração de solução fisiológica intraperitonial a partir do 8º dia; Grupo 2. LPVP: ligadura parcial da veia porta e Grupo 3. LPVP+Glutamina: ligadura parcial da veia porta e a partir do 8º dia administração de glutamina (50mg/Kg) intraperitonialmente. Após 15 dias do procedimento cirúrgico foi verificada a pressão na artéria mesentérica desses animais através de um polígrafo de pressão Lettica em mmHg. Os animais foram sacrificados e o estresse oxidativo foi avaliado pela medida das substâncias que reagem ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Os dados foram submetidos a análise estatística de ANOVA, seguida de teste "t" de student. Os valores de pressão portal (mmHg) e os respectivos valores de TBARS (nmol/mg) encontrados foram: 1. SO: 16,3mmHg, 0,17nmol/mg; 2. LPVP: 25,12mmHg, 0,78nmol/mg; 3. LPVP+G: 20,47mmHg, 0,19nmol/mg. Houve uma redução significativa na pressão portal no grupo LPVP tratado com glutamina, quando comparado ao grupo LPVP. Este estudo preliminar sugere que a administração de glutamina, através da inibição do estresse oxidativo, reduz a pressão portal em animais com ligadura parcial de veia porta. Apoio Financeiro: FAPERGS, CNPQ, UFRGS, ULBRA.

POS 10-16

Nitric oxide synthase alteration induced by chronic stress exposition in mouse hippocampus. Participation in stress induced deficit in memory. María L Palumbo, María Zorrilla-Zubilette, Laura Guelman, Graciela A Cremaschi, Ana M Genaro. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFYBO)-CONICET-Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Exposure to adverse situations affects an important number of aspects of our daily life. While response to stress is a necessary survival mechanism, prolonged stress can have several repercussion, such as impairments in learning and memory. Nitric oxide (NO) has been involved in many pathophysiological brain processes including hippocampal responses to stress. However, the exact role of NO in the cognitive deficit associated to chronic stress exposition has not been elucidated. Here we investigated the participation of hippocampal NO production by constitutive and inducible isoforms of NOS in the memory impairment induced in mice subjected to a chronic mild stress model (CMS). CMS mice showed a poor learning performance in both open field and passive avoidance inhibitory task respect to control mice. On the other hand chronic stress induced a diminished NO production. This decrease was due to calcium dependent nNOS activity as eNOS increased in CMS animals. Besides, NO production by iNOS isoform was not detected. These results were according to western-blot evaluation of protein levels. The magnitude of oxidative stress, measured by reactive oxygen species (ROS) production, after excitotoxic levels of NMDA, was increased in hippocampus of CMS mice. Moreover, basal and stimulated ROS formation were higher in the presence of both, general NOS inhibitor and selective nNOS inhibitor, in control and CMS mice. The addition of co-factors for optimal NOS activity decreased both, basal and stimulated, levels of ROS. Finally, administration of L-NAME to non-exposed animals induced similar behavioral and neurochemical alterations that those observed in CMS mice. These results suggest a novel role for nNOS showing protective activity against insults that trigger tissue toxicity leading to memory impairments.

POS 10-17

Metabolismo y envejecimiento: Estrés oxidativo y longevidad cronológica en cepas de *Saccharomyces cerevisiae* con deleciones simples en el metabolismo del glucógeno. Cristián Favre, María Cristina Carrillo, Instituto de Fisiología Experimental, CONICET, Facultad de Ciencias Bioquímicas, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

El envejecimiento cronológico en levadura es un modelo de interés por su semejanza con el envejecimiento en tejidos mamíferos post mitóticos, que poseyendo baja actividad proliferativa conservan actividad metabólica. La longevidad cronológica en levadura se asocia fuertemente a la resistencia al estrés oxidativo. En este estudio, luego de realizar una selección de fenotipos hipo e hiper glucogenogénicos en *S. cerevisiae* con deleciones (Euroscarf, Yeast Deletion Project) de enzimas del metabolismo glucídico y de comparar su longevidad cronológica, se midió: Sensibilidad al estrés, ROS y marcadores de apoptosis durante el envejecimiento. Entre las cepas que acumulaban mayores cantidades de glucógeno, la deleción de glucógeno fosforilasa, GPH1 (59 *vs*. 29 µg glucógeno/10^8 cel. en *wt*. p<.05), fue la única en mostrar menor longevidad, intolerancia al estrés y mayores niveles de ROS durante su envejecimiento. Al cuantificar la transcripción de superóxidodismutasa, SOD, 1 y 2 en esta cepa, los niveles fueron 4 y 3 veces menores que en la *wt* al final de la fase estacionaria (8 y 5 *vs*. 31 y 16 UA en *wt*, respectivamente. p<.05) y durante el envejecimiento. Deleciones hipo glucogenogénicas como la de glucógeno sintasa, GSY2 (8µg/10^8 cel. p<.05), presentaron una ligera ventaja de supervivencia respecto a la salvaje, pero sin mostrar mayores niveles de SOD1 ó 2, ni de tolerancia al estrés.

La imposibilidad de degradar glucógeno (deleción de GPH1), y no su sola acumulación, condujo a un envejecimiento acelerado que podría deberse, en parte, a una menor resistencia al estrés oxidativo asociada a los niveles de transcripto de ambas SOD en esa mutante. Resta aún desentramar el posible diálogo entre la disponibilidad de glucógeno y la regulación negativa de estos genes en el envejecimiento.

POS 10-18

Potencial antioxidante do extrato de *Croton cajucara* benth e efeitos sobre o estresse oxidativo em ratos diabéticos. Éder Marcolin, Graziella Rodriguez, Larissa Pacheco, Marilene Porawski, Norma Marroni, Marc F. Richter. PPGFisiologia/UFRGS, Lab. Hepatologia e Fisiologia do HCPA, Lab. Estresse Oxidativo e Antioxidantes/ULBRA, Lab. de Farmacocinética/CPCM-ULBRA.

O Croton *cajucara* Benth (CcB) é uma planta utilizada no tratamento de doenças, porém sua ação antioxidante exige estudos e comprovações. O objetivo foi determinar a atividade antioxidante *in vitro* do CcB por HPLC e o efeito do extrato aquoso do CcB nos níveis glicêmicos, lipoperoxidação (LPO) e atividade de enzimas antioxidantes em ratos Wistar induzidos ao Diabetes Mellitus (DM) por estreptozotocina. Os animais foram tratados por 5 e 20 dias com extrato aquoso da casca do CcB (1,5 mL, i.g.). Após 60 dias, realizaram-se dosagens de glicemia e das enzimas séricas aspartato aminotransferase (AST), aspartato alalinotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA). O estresse oxidativo foi avaliado no fígado pelo Método das Substâncias que Reagem ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS - nmoles/mgprot) e medida da atividade das enzimas antioxidantes Superóxido Dismutase (SOD - Umg/prot) e Catalase (CAT - pmol/mg prot). A atividade antioxidante *in vitro* foi medida através da reação enzimática a base da xantina oxidase detectando 2,3- e 2,5-DHBA, via HPLC com coluna de fase reversa NovaPak C18 (Waters). A estatística foi Anova e teste Student-Newman-Keuls, com p<0,05. O chá de CcB numa concentração de 0,5 mg/ml inibiu a produção dos 2,3- e 2,5 DHBA em 75%. O tratamento não reduziu a glicemia (DM=444,9±33,9; DM+CcB5D=372±26,8; DM+CcB 20D=440,7±23,8). As enzimas séricas diminuíram no grupo DM+CcB. A LPO diminuiu no grupo DM+CcB 20D (DM+CcB20D=0,41±0,06). A atividade da SOD diminuiu nos grupos DM+CcB 5D e DM+CcB 20D (DM+CcB 5D=5,43±0,71; DM+CcB 20D=4,79±1,08). A CAT não apresentou diferença nos grupos tratados. Os animais DM apresentaram aumento no dano oxidativo em relação aos controles e aumento na atividade antioxidante. O tratamento com CcB durante 20 dias parece melhorar o quadro reduzindo esse dano oxidativo.

POS 10-19

Proteínas de Choque Térmico HSPs 27, 60, 70 e 72: Análise da expressão no reparo da lesão muscular em ratos. Sérgio Paulo de Tarso Domingues[1-3]; Luciana Chagas Caperuto[2]; Carla Roberta de Oliveira Carvalho[2]; Eduardo Borges [1]; Luis Felipe Milano Teixeira[1-3]; Adrianne Christinne Palanch[1]; Cláudia Regina Cavaglieri[1]; Rozangela Verlengia[1]. [1]Núcleo de Performance Humana-Mestrado em Educação Física, Faculdade de Ciências da Saúde-UNIMEP, Piracicaba-SP, Brasil; [2] Departamento de Fisiologia e Biofísica do Instituto de Ciências Biomédicas-USP-São Paulo Brazil; [3] UIRAPURU SUPERIOR - NEPECE. .

O exercício induz alterações significativas em marcadores e indicadores da lesão muscular e as proteínas de choque térmico (HSP) são sintetizadas pelas células em resposta a várias condições de extresse, como por exemplo, o exercício exaustivo. Dessa forma, o objetivo do presente estudo é avaliar a expressão das HSPs 27, 60, 70 e 72 em diferentes períodos após sessão única de exercício exaustivo em esteira no músculo gastrocnêmio. Para tal, 36 Ratos Wistar machos, com 90 dias de vida, foram submetidos à protocolo de exercício exaustivo em esteira com velocidade e inclinação final de 25m/min e 10º respectivamente e sacrificados após 0, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48 e 72 horas (n=4). A expressão das HSPs foi determinada através do uso da técnica de Western Blot, utilizando anticorpos específicos. O software SCION IMAGE foi utilizado para leitura da densidade óptica dos espectros. Para realizar a comparação entre os grupos foi utilizado o teste ANOVA com post hoc de Tukey. Os resultados não mostram diferenças estatisticamente significantes para as HSPs 27 e 70, já para HSP 60 foram encontradas reduções estatisticamente significantes para os tempos imediato (62,39%), 1 hora (45,27%) e 2 horas (53,01%),

já a HSP 72 apresentou aumento estatisticamente significantes para os tempos 4 horas (160,22%) e 72 Horas (166,12%). Os dados sugerem um aumento da expressão da HSP 72 e diminuição da HSP 60 para o exercício exaustivo. Tais resultados confirmam a participação das HSPs no reparo da lesão muscular conforme sugeriu o estudo. APOIO FINANCEIRO: FAPESP e Fundo de Apoio a Pesquisa UNIMEP

POS 10-20

Exam stress modifies autonomic control of heart rate in university students. Susana Perrone, Daniel Zapata, Graciela Bragagnolo, Celina Bratovich, María Juárez, Diego Fainstein, Carla MántarasLeonardo Nicola Siri; Labs. de Fisiología y Biofísica + de Bioelectricidad, F.IngenieríaUNER; F. Psicol. U. Nac. Rosario; F. Reg. Bs. As. UTN; CONICET; Argentina; labfyb@bioingenieria.edu.ar

Aims and methods: In order to explore the role of the autonomic nervous system (ANS) in heart physiology - stress relationship, steady state heart rate variability (HRV) was analyzed in supine resting and modifying autonomic balance by orthostatism (OR), on 33 healthy, 3rd-year students of Bioengineering who were under exam stress. Chronic stress (Holmes) and anxiety state and trait (STAI) were also valuated. The studies were made the morning before an exam (exam stress: ex) and another morning 15 days away from any exam date (basal condition). Basal vs. ex were compared by the Wilcoxon test. The correlation between HRV and the psy-tests was linear fitted and the fits differences (basal vs. ex) were analysed by the Z statistics. *Results*: media± s.e.; *no significant differences* (NS): $p \geq 0.05$. **Results: a-**Holmes test indicated low chronic stress (154±20) for this group, but over 20% of them suffered from over stress (Holmes > 250); **b-**The basal STAI-state score (37±2) increased when an exam (44±2, $p<0.008$), which means that the students feels exams as a stressor; **c-**Vital signs were within normal ranges being NS between basal and ex; **d-**HRV in supine resting position resulted in NS (basal vs. ex), therefore, the reference point for the OR remains unaltered by exam stress; **e-**Resting HRV did not show any correlation with Holmes or with STAI, neither in basal nor in ex conditions; **f-**The OR changes rationalised by basal values were 8±6 % and 26±6 % (basal vs. ex, $p<0.02$) for Low Frequency Area, and **-**71±3 % vs. **-**57±6 % (basal vs. ex, $p< 0.01$) for High Frequency Area, indicating that the baroreflex is affected by exam stress in a larger extent than the sinusal respiratory arrhythmia- **Conclusions: i-** Most of our students are under chronic stress conditions, many of them suffering from over stress; **ii-**Exams temporarily augment the stress level; **iii-**Despite of chronic stress, ANS is able to maintain normal valued vital signs as well as normal resting HRV; **iv-** When ANS restarts homeostasis under sudden changes, parasympathetic control seems to be less

Pos 10-21

Cambios en las lipoproteínas plasmáticas y estrés oxidativo inducidos por la inmovilización en ratas. Scoppa Graciela, Binotti Silvana, Bianco Marta, Mugnaini M.Teresa, Puebla Marisa, Gauna Héctor, Garcia Mirta, Bensi Nora, Niebylski Ana, Depto Biología Molecular FCEFQ y N. UNRC, Río Cuarto. Córdoba.

Para evaluar los cambios en las lipoproteínas plasmáticas y el estrés oxidativo inducidos por la inmovilización (IMO) en ratas, se utilizaron ratas Wistar macho divididas en 2 grupos: controles (C) y estresadas (E) (60 días de estrés por IMO en plancha). Se obtuvieron muestras de sangre y se separaron las lipoproteínas plasmáticas por ultracentrifugación de flotación secuencial. Se determinó el nivel de colesterol y de triacilglicéridos en las fracciones VLDL, LDL y HDL y se calcularon los índices aterogénicos y se cuantificó la concentración de apolipoproteina B, como indicadores de riesgo. Además, se evaluó la actividad de la superóxido dismutasa hepática (SOD), de óxido nitrico sintetasa inducible (iNOS) y ciclooxigenasa-2 (COX-2). Se realizaron estudios histopatológicos en la arteria aorta torácica. Los valores de colesterol en las fracciones VLDL, LDL y HDL fueron mayores en los E que en los C ($p=0.036$, $p=0.001$ y $p=0.009$ respectivamente). Los índices colesterol-VLDL/triacilglicéridos?VLDL y colesterol-LDL/triacilglicéridos-LDL mostraron también un incremento en los ratas E ($p= 0.004$ y $p=0.0005$). Coincidentemente, la concentración de apolipoproteína B fue un 59% mayor en los E y en estos mismos animales se encontró una reducción del 66 % en los niveles de SOD. Si bien no se observaron alteraciones en la arteria aorta ni en la actividad de la iNOS y COX-2 en ratas sometidas a estrés durante 60 días, los cambios observados en las fracciones lipoproteicas y la disminución de la actividad de la SOD hepática en repuesta al estrés crónico estarían indicando una alta predisposición al riesgo aterogénico.

POS 11
Fisiología de la reproducción
Reproduction physiology

POS 11-01

Mediación de los receptores glutamatérgicos NMDA y del óxido nítrico en el efecto de la anatoxina-a. F. Campos, R. Durán, L. Vidal, *L. R. F. Faro, R. C. Cervantes** y M. Alfonso. Laboratorio de Fisiología, Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud, Facultad de Ciencias, Universidad de Vigo, España. *Departamento de Fisiología, Centro de Ciências Biológicas, UFPA, Belém, PA, Brasil. ** ITMAR 01, Veracruz., México.

La anatoxina-a es una cianotoxina que actúa como un potente y específico agonista de los receptores nicotínicos colinérgicos. El presente estudio tiene como objetivo, comprobar si además de los receptores nicotínicos, los receptores glutamatérgicos NMDA y el Óxido Nítrico también participan en el efecto de la anatoxina-a sobre la liberación de dopamina estriatal. La anatoxina-a 3.5 mM fue administrada a través de la sonda de microdiálisis en el estriado durante 20 minutos. El tratamiento con dos antagonistas de los receptores glutamatérgicos NMDA, MK-801 (500 µM) y APV (650 µM), redujo el efecto de la anatoxina-a 25 % y 26 % respectivamente, mientras que la administración de dos inhibidores de la enzima Óxido Nítrico Sintasa, L-NAME (100 µM) y 7-NI (100 µM) inhibió el efecto de la toxina 22 % y 26 % respectivamente. Los niveles de dopamina fueron determinados mediante un sistema de HPLC con detección electroquímica. Los resultados se muestran como la media ± S.E.M. de 6 experimentos expresados como el porcentaje respecto a los niveles basales. Los experimentos fueron realizados de acuerdo con la normativa de la Comunidad Europea (86/609/CEE) y del Estado Español (Real Decreto 223/1988) para el uso de animales de laboratorio.

***POS* 11-02**

Can the tobacco exposure to interfere with seminal quality of rats? [1,2]Garcia PC [1,2]Piffer RC, [3]Rubio EM, [2]Gerardin DCC, [2]Micheloto FHM, [1,2]Pereira OCM. [1]Dept of Medical Clinics-FMB, [2]Dept of Pharmacology-IB, [3]Dept of Urology UNESP/ Botucatu-SP, Brazil.

Considering the widely consumption of cigarettes smoking in the world associated to literature data by indicating that tobacco can damage the fertility, the purpose of the present study was to investigate the fertility and seminal quality of male rats exposure to tobacco. Wistar rats (60 days of age) were divided into two groups: G1 (control) and G2 (expose to tobacco, 20 cigarettes/day, during 60 consecutive days). The quantity of the spermatozoa in the testis and epididymis as well as the seminal quality in vas deferens were evaluated. Data were compared by the Student´s *t*-test (mean±SEM); n=at least 10 animals/group, $p<0,05$*. The exposure to tobacco reduced the number of spermatozoa $x10^6$/g/organ in testis (G1: 151.17 ± 4.98/ G2: 134.64 ± 2.25*), in caput and corpus of epididymis (G1: 338.75 ± 6.35/ G2: 295.77 ± 4.42*), in cauda of epididymis (G1: 857,45 ± 15,40/ G2: 765,23 ± 22,49*) and sperm transit times/ days (G1: 2,83 ± 0,11/ G2: 2,48 ± 0,12*). The treatment also altered the seminal quality in vas deferens decreased the spermatozoa concentration (G1: $662x10^6$ ± 49.2/ G2: $560x10^6$± 19.4*), the alive spermatozoa number (G1: 97.30 ± 0.39/ G2: 90.81± 0.67*) and normal morphology spermatozoa percentage (G1: 97.90 ± 0.31/G2: 95.00 ± 0.78*). These results indicated that tobacco exposure induced a decreasing in the spermatic quantity and mainly through damage in the seminal quality. These features may be responsible by subfertitily observed in large number of smoking cigarette men. Financial Support: FAPESP - Process:2004/08627-3.

POS 11-03

Neuroendocrine and reproductive aspects of adult male rats exposed prenatally to an aromatase inhibitor. [1,3]Gerardin, DCC, [1,2]Piffer, RC, [1,2]Garcia, PC, [4]Moreira, EG, [3]Bernardi, MM, [1,2]Pereira, OCM. [1]Dept of Pharmacology, IB-UNESP, Botucatu, [2]Dept. of Medical Clinics, FMB-UNESP, Botucatu, [3]Dept. of Pharmacology, ICB-USP, Sao Paulo, [4]Dept. of Physiological Sciences, UEL, Londrina, Brazil.

In males, the testicular androgen exposure during the sexual differentiation (SD) period is assumed to suppress the expression of female characteristics, a phenomenon called masculinization that is dependent on the conversion of testosterone to estrogen during perinatal life, by the aromatase enzyme. The aim of the present study was to investigate the effects of the aromatase inhibitor (letrozole) during the SD on later repercussion in reproductive performance and neuroendocrine aspects of male rats. Male rats were divided into two groups: control and treated prenatally with letrozole. The pregnant female received letrozole 1 mg/Kg/dia, by oral gavage, at gestational days 21 and 22. The parameters evaluated in male rats at 75 days of age were testosterone level, sexual behavior, and neurochemistry. Statistic analysis: Student *t* test, $*p<0.05$ and $**p<0.01$. The treatment with letrozole increased testosterone level (2.50 ± 0.29/4.83 ± 0.49*), impaired sexual

behavior (from ten animals, only two were able to ejaculated) and changed the activity of dopaminergic system in the hypothalamus (DOPAC: 20.92 ± 1.43/31.02 ± 2.01**, DOPAC/DA: 0.08 ± 0.005/0.10 ± 0.002**) and in the striatum (DA: 6842.85 ± 230.71/7603.33 ± 249.56). The results showed the importance of the estrogen levels and the necessity of activation the estrogen receptor during the SD at perinatal life for a complete masculinization and defeminization of the hypothalamus. Despite the testosterone and dopamine enlargement at adult life, the prenatal exposure to aromatase inhibitor impaired the reproductive function, since these animals were not able to ejaculate. Thus, the capacity of producing descendents may be also considered in this case. Financial Support: FAPESP (Proc: 01/03458-0 and 2004/08627-3).

POS 11-04

Can the prenatal betamethasone exposure alter the fertility in male rats? [1,2]Piffer RC, [1,2]Garcia PC, [2]Micheloto FHM, [2]Agati LB, [2]Gerardin DCC, [1,2]Pereira OCM. [1]Dept. of Medical Clinics-FMB, [2]Dept. of Pharmacology-IB, UNESP/Botucatu-SP, Brazil.

Corticosteroids administration to pregnant women at risk of preterm birth is used widely in obstetric practice. Unknowing if there is a correlation among high corticosteroids levels and the testosterone peak in the critical period of brain sexual differentiation in male rats, the aim of this study was to investigate the long-term effects of prenatal betamethasone exposure on fertility and sperm quality. Pregnant rats received (IM) 0.1mg/kg of Betamethasone-Sigma Co., USA (Beta Group) or saline (Control Group) on 12th, 13th, 18th, and 19th days of pregnancy, to evaluate the fertility and the sperm quality in male rat offspring at 90 days of age. Data were compared by Student´s *t*-test (mean±SEM) or Mann-Whitney test [median (IQ_1-IQ_3)], n=10/group, *p<0.05. For the fertility test, the adult male rats were housed in a large cage with fertile untreated female rats (2 females/male). After 15 days of cohabit, 80% from Beta Group males were able to mate, however the females mated with these males showed, on 21st day of pregnancy, an increased rate of post-implantation loss [8.33 (8.33-11.11)/30.77 (25.00-42.86)*], reduced rates of implantation [100.00 (92.59-100.00)/86.98 (79.49-100.00)*] and fetal viability [100.00 (96.88-100.00)/75.00 (60.91-88.93)*], when compared with Control Group. The prenatal treatment with betamethasone also altered the sperm quality in vas deferens, by reducing significantly the spermatozoa concentration x 10^6 (778±55.61/570±43.74*), the percentages of alive spermatozoa [97.00 (97.00-98.00)/96.00 (94.25-96.00)*], the mobile [33.50 (27.50-40.00)/28.00 (16.25-28.75)*], and the normal morphology [98.00 (97.00-99.00)/94.00 (93.00-95.00)*]. These results suggest that the prenatal betamethasone exposure, in male rats, may have altered the hormonal levels during critical period of brain sexual differentiation, by impairing the sperm quality and subsequent capacity to generate viable descendants. Financial support: CNPq (Proc. nº142388/2004-1)

POS 11-05

Dimorfismo sexual en ratas: efecto de la deprivación materna temprana y el estrés crónico variable sobre los niveles de ACTH, Corticosterona y la reactividad emocional. Renard Georgina, Rivarola Angélica, Suárez Marta - Cátedra de Fisiología Animal, Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales - Universidad Nacional de Córdoba.

Es conocido que el eje Hipotálamo-Hipófiso-Adrenal es activado en respuesta a distintos estresores para restablecer la homeostasis del organismo. Por otro lado, el sexo de los animales es un factor relevante en el desarrollo de la respuesta de estrés. El objetivo del presente trabajo fue evaluar los niveles de ACTH y Corticosterona plasmática, y la respuesta conductual en ratas macho y hembra sometidas a deprivación materna y estrés crónico variable. Ratas Wistar macho y hembra fueron separadas de la madre 4.5 horas diariamente, durante las tres primeras semanas de vida. A los 48 días de edad fueron sometidas a estrés crónico variable (5 estresores diferentes durante 24 días). 24 horas después del último estresor los animales fueron sometidos al test de Open Field. Los machos no deprivados y los deprivados de la madre mostraron menores niveles de ACTH comparados con las hembras ($p<0.001$). En ratas macho sometidas a estrés crónico, los animales deprivados de la madre mostraron una disminución en los niveles de ACTH y Corticosterona comparados con los machos no deprivados ($p<0.05$). Por otro lado, las hembras deprivadas de la madre y estresadas mostraron una disminución en los niveles de ACTH plasmático comparado con las hembras no estresadas ($p<0.01$). Con respecto al test de Open Field, los machos estresados presentaron menor reactividad emocional que las hembras. Esto se evidenció por una disminución en la defecación ($p<0.05$). Después de la exposición al estrés crónico variable, las hembras exhibieron una alta respuesta emocional, mientras que los machos mostraron lo contrario. Estos resultados sugieren, en consecuencia, que la deprivación materna temprana y el estrés crónico variable producen cambios dependientes del sexo en la respuesta del eje Hipófiso-Adrenal y en el comportamiento emocional de ratas adultas.

POS 11-06

Progression of the ovarian sex hormones deficiency in the left ventricle papillary muscle contractility in rat. Altemar Santos Paigel, Gabriel Pelegrineti Targueta, Ivanita Stefanon, Department of Physiological Sciences, Federal University of Espirito Santo, Brazil

Ovarian sex hormones are implicated in cardiovascular function and disease. It was shown that estrogen is involved in the control of ß-adrenergic response and can act as a L-type Ca^{2+}channel blocker, which are important aspects to regulate cardiac contractility. We evalu-

ated the progression of ovarian sex hormones deficiency in the left ventricle papillary muscle in 7, 15, 30 and 60 days ovariectomized rats. Eight weeks old female Wistar rats were divided in two groups: Sham and ovariectomized (Ovx). After 7, 15, 30 and 60 days of ovariectomy animals were killed and the left ventricle anterior papillary was removed and mounted in an isometric tension preparation superfused with buffered Krebs solution, at 31°C and pH = 7.4. We measured the inotropic response to Ca^{2+} (0,62 to 3.75 mM), Isoproterenol (Iso 10^{-8} to 10^{-4} M) and the contractility in response to rate changes (0.25 to 3 Hz). There was no difference in the inotropic response at 7, 15, and 30 days after ovariectomy. However, at 60 days ovariectomized rats presented a decrease in the cardiac inotropic response to Ca^{2+} (1.25 mM: Sham=565±43, Ovx=373±39 g/g; P<0.01), to Iso (10^{-5} M: Sham=687±66, Ovx=500±05 g/g; P<0.01) and during the force-frequency curve. Also in the presence of increased extracellular Ca^{2+} and Iso concentration, the rate of force development (dF/dt max) was reduced in the Ovx group. These results demonstrate that deficiency of female sex hormone reduces cardiac contractility in control conditions and after positive inotropic interventions only in a late phase of hormone deprivation. Financial support: CNPq; FAPES/FUNCITEC.

POS 11-07

Participación de la inervación sensorial sobre la regulación de las concentraciones de noradrenalina ovárica a lo largo del día del proestro. Angélica Trujillo Hernández[1], Guadalupe Merchant Baéz[1], Roberto Domínguez[2], Leticia Morales[2]. Escuela de Biología- BUAP[1] y UIBIR-FES Zaragoza-UNAM[2].

Se ha postulado la existencia de un circuito simpático-sensorial que participa en la regulación de las funciones del ovario en la rata adulta. **Objetivo:** analizar los efectos de la denervación sensorial con capsaicina (CAP) sobre la concentración de noradrenalina (NA) en el ovario a lo largo del día del proestro (P). **Método:** se utilizaron ratas hembras de la cepa CII-ZV en la etapa de diestro 1, a las que se les realizó la administración de una sola dosis de CAP (50 mg/Kg) por vía s.c. Los animales se autopsiaron a las 8:00, 12:00, 16:00, 18:00 y 20:00 horas del P inmediato a la administración. **Resultados:** los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla:

Hora de la autopsia	NA en el ovario (ng/mg)		Masa ovárica (mg/100 g de pc)		Útero (mg/100 g de pc)	
	Testigo	**CAP**	**Testigo**	**CAP**	**Testigo**	**CAP**
8:00	4.9±0.4	2.3±0.2*	27.5±0.7	22.6±1*	255.6±3.9	185.4±3*
12:00	3.2±0.4	1.9±0.2*	25.4±1	21.3±1	290.7±5.2	232.2±4.5*
16:00	2.8±0.2	1.2±0.1*	25.3±1	25.9±0.8	245.5±3.6	218.1±3.6*
18:00	2.4±0.6	1.1±0.2	34.9±1.5	27.7±1.4*	296.6±5.7	188.7±3.6*
20:00	3.1±0.3	1.8±0.2*	28.2±0.7	31.4±1.1	366.5±7.2	256.4±4.6*
* p<0.05 Grupo CAP *vs*. respectivo grupo testigo						

Los resultados obtenidos en el presente trabajo apoyan la idea de que la inervación sensorial, tal como sucede en otros tejidos periféricos, regula la actividad de las fibras simpáticas a nivel del ovario. La disminución en el peso del útero nos permite sugerir que este tipo de inervación estaría implicado en la regulación de la secreción de hormonas esteroides por parte del ovario. Apoyado por: PAPIIT-UNAM: IN-200505 / Proyecto VIEP -BUAP: 64/NAT/06-G.

POS 11-08

Efectos de la exposición aguda a estrógenos sobre la dinámica folicular en el ovario de la rata prepuber. Gabriel Anesetti, Rebeca Chávez-Genaro, Paula Lombide. Lab. de Biología de la Reproducción, Depto. Histología y Embriología, Facultad de Medicina, UdelaR, Montevideo, Uruguay.

Los estrógenos (E_2) ejercen múltiples acciones sobre el ovario adulto, incluyendo proliferación y crecimiento de las células granulosas, síntesis de numerosos factores de crecimiento, modificaciones en la expresión de sus propios receptores así como inducción de receptores para la hormona luteinizante, entre otros. Además, pueden estar asociados a la regulación de la transición de los folículos primordiales al pool de folículos en crecimiento. La exposición de ratas prepúberes a E_2 provoca efectos deletéreos a largo plazo sobre la actividad ovárica, incluyendo alteraciones de la ciclicidad y presencia de múltiples quistes foliculares, sin embargo poco se conoce acerca de los mecanismos que llevan a esta condición. El objetivo de este estudio fue examinar in vivo y a corto plazo, el efecto de la administración de E_2 en el animal prepuber sobre la población folicular del ovario. Para ello, ratas de 15 días de edad fueron inyectadas con una única dosis de propionato de estradiol y sacrificadas en los siguientes 7 días post-inyección. Se realizó cuantificación de las diferentes poblaciones foliculares de los ovarios en cortes de parafina seriados y coloreados con Hematoxilina-Eosina. El número de folículos primordiales fue significativamente mayor en los animales tratados con E_2 con respecto a los observados en los ovarios de animales control. Nuestros resultados permiten sugerir que los E_2 ejercen un papel regulador en el proceso de foliculogénesis preantral, probablemente modificando la expresión de factores locales. El conocimiento acerca de la regulación de estos factores permitirá comprender aspectos relevantes de la fisiología y la fisiopatología ovárica.

POS 11-09

Influence of Estrogen on Cardiac Sympatovagal Balance of Spontaneously Hypertensive Rats. Daniel Penteado Martins Dias, Mauro Oliveira, Ana Patrícia Costa Macchetti, Hélio Cesar Salgado, Rubens Fazan Jr. School of Medicine of Ribeirão Preto. Department of Physiology. USP - Brazil.

We investigated the effect of ovariectomy (OVX) and estradiol replacement on cardiac sympatovagal balance of conscious spontaneously hypertensive rats (SHR). 12 weeks aged female SHR were anesthetized with tribro-

moethanol (25 mg/kg ip) and submitted to OVX or sham surgery. One week after OVX or sham operation, SHR received estradiol (10 μg/kg/day, sc) or vehicle daily for 21 days. Two days before the experiments, the animals were implanted with ECG electrodes and a catheter into femoral vein. After basal recording of ECG, the rats received the autonomic receptors blockers atropine (2 mg/kg, iv), and propranolol (4 mg/kg, iv), in a random sequence. On the following day, the animal received the autonomic blockers in the inverse sequence. At the end of the last ECG recording the rats were implanted with catheters into femoral artery for measurement of arterial pressure (AP). Basal heart rate (HR) was found similar in sham operated or OVX treated with vehicle (376±14 and 362±8 bpm). Treatment with estradiol increased basal HR of both, sham operated and OVX rats (406±12 and 431±14 bpm). Bradycardia elicited by propranolol was greater in rats treated with estradiol (66±13 and 97±7 bpm) as compared to rats treated with vehicle (42±6 and 35±8 bpm). Atropine elicited similar tachycardia in all groups studied. AP was similar among the groups. We conclude that OVX did not affect AP, HR of autonomic balance to the heart, on the other hand, the treatment with estrogen, increased basal HR and cardiac sympathetic tone in either, sham operated and OVX SHR. Supported by: CAPES

POS 11-10

Correlation between Progesterone Receptors A and B and Estrogen Receptor-α gene expression in fibroadenomas and normal breast tissue. Gisele Branchini, Lolita Schneider, Rodrigo Cericatto, Poli Mara Spritzer, Ilma Simoni Brum. Laboratory of Molecular Endocrinology and Neuroendocrinology, Department of Physiology, ICBS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Breast Service, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

Progesterone and estrogen are essential for normal breast development. Alterations in their receptors gene expression can change the normal proliferation and differentiation of breast cells and lead to formation of tumors. The evaluation of progesterone receptors (*PR*s) and estrogen receptors (*ER*s) in fibroadenomas, compared to normal breast, may help to explain the processes involved in development of this benign breast tumors. The aims of this study were to evaluate the *PRA* and *PRB* gene expression throughout the menstrual cycle and to identify a correlation between *PR*s and *ER-α* in normal breast and fibroadenomas. Gene expression (mean ± SD) during menstrual cycle was analyzed by Pearson's correlation coefficients and Student's *t* test. Results: normal breast: *PRA*/follicular: 0.88 ± 0.09; *PRA*/luteal: 0.77 ± 0.14; *PRB*/follicular: 0.94 ± 0.33; *PRB*/luteal: 0.88 ± 0.11. Fibroadenoma: *PRA*/follicular: 0.93 ± 0.09; *PRA*/luteal: 0.82 ± 0.12; *PRB*/follicular: 0.91 ± 0.15; *PRB*/luteal: 0.89 ± 0.11. There weren't significant differences in gene expression between cycle phases. There was a positive correlation between *PRA* and *ER-α* gene expression in normal breast (r=0.809; p=0.008), while *PRB* had not show correlation with *ER-α* neither in normal breast nor in fibroadenoma. The preliminary data show that *PRA* and *ER-α* can be related in normal breast, and that there are not significant fluctuations in *PR*s gene expression during menstrual cycle. Support: FIPE/HCPA, PROPESQ/UFRGS.

POS 11-11

As pressões socias influenciam na ovulação de fêmeas de *Calomys laucha* (Rodentia: Cricetidae)? Bruna Vivian Brites, Roberta Klein, Renato Zacarias, João Carlos Cousin e Elton Pinto Colares. Departamento de Ciências Morfobiológicas - Departamento de Ciências Fisiológicas - Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - Fisiologia Animal Comparada - Fundação Universidade Federal do Rio Grande - Rio Grande - RS - Brasil.

O objetivo foi verificar o efeito das pressões sociais na ovulação de fêmeas de *Calomys laucha*. Os animais foram capurados nas dunas do Cassino (***ca.*** 32°20'S; 52°10'W) sul do Brasil e mantidas no biotério. Os animais acasalados foram alimentados com ração comercial para ratos e água *ad libitum*. Com os filhos destes casais foram realizados 4 experimentos. Para os experimentos I, II e III foram utilizadas 10 fêmeas desmamadas/experimento e para o experimento IV 6 fêmeas com 40 dias de vida. Para o experimento I as fêmeas foram acondicionadas em gaiola com serragem previamente (24h) habitada e marcada via urina por um macho adulto. Para o experimento II foram formados 10 casais. No experimento III cada fêmea foi acondicionada em uma gaiola na presença de outras duas fêmeas adultas. No experimento IV cada fêmea foi estimulada com uma ponteira representando o ato da cópula. Entre 50-60 dias de vida, as fêmeas dos experimentos I, II e III foram pesadas, sacrificadas (Éter), os ovários extraídos, fixados em líquido de Bouin, armazenados em álcool 70º e preparados para impregnação em parafina, microtomia (7μm) e observação sob microscopia óptica. Os cortes foram corados pelo método Hematoxilina-Eosina e Método Tricrômico de Gomory. No experimento IV após cinco dias de estímulo seguiu-se o mesmo procedimento. No experimento I e II e IV ocorreu o desenvolvimento de folículos antrais, De Graaf e corpos lúteos. No experimento III somente folículos antrais foram encontrados nos preparados. Os resultados preliminares microanatômicos indicam que a ovulação em *C. laucha* é dependente de feromonio e de estímulo mecânico.

POS 11-12

Identificación de la "ventana de fertilidad" mediante monitoreo estral no invasivo en chinchilla. Juan M. Busso*, Enrique Florit**, Marina F. Ponzio*, Marta Fiol de Cuneo, Rubén D. Ruiz. Instituto de Fisiología, Fac. Cs. Méd. U.N.C., Córdoba, Argentina.

La chinchilla, originaria de los Andes centrales (35ºS-15ºS) de Sudamérica, posee una de las pieles más valiosas del mundo y se encuentra en vías de extinción en vida silvestre. Su biotipo es inusual entre los roedores: tamaño corporal mediano y ciclos estral y gestacional largos. Determinar el momento de la ovulación es requisito indispensable para la aplicación de técnicas de reproducción asistida. Con este propósito, en 11 hembras en cautiverio (alojadas individualmente, con alimento y agua *ad libitum*, 22±2ºC) sometidas a fotoperíodo natural (agosto a diciembre; 130 días) determinamos, 2 veces/semana (14p.m.): temperatura rectal, citología exfoliativa vaginal (tinción de Papanicolaou), apertura vaginal, concentración urinaria (indexada por creatinina) de estrógenos, progestágenos (RIA). La temperatura rectal basal fue de 37,8 ± 0,3ºC (TM ±DE) y se detectaron picos de 38,5º y 36,3ºC, concordantes con perfiles de extendidos vaginales que mostraron predominio de células epiteliales esosinófilas (hasta 70%) o de leucocitos (hasta 100%), respectivamente. La excreción urinaria de esteroides sexuales delineó perfiles compatibles con los eventos del ciclo ovárico al que pertenecían las muestras. La apertura vaginal por su parte, tuvo un patrón de ocurrencia no sincrónico con los fenómenos descriptos. El análisis multivariado de los perfiles permite postular criterios para la identificación y caracterización, en cuanto a su longitud de la fase luteal e interluteal en cada ciclo; éstas mostraron variaciones individuales y con ellas, la duración del ciclo. Este estudio ofrece las bases para la obtención de una herramienta predictiva de la "ventana de fertilidad" en esta especie. La posibilidad de aplicar técnicas de reproducción asistida en chinchillas constituye una perspectiva de perfeccionamiento para los programas de cría tanto *in situ* como *ex situ*. Subsidiado por Agencia Córdoba Ciencia y SECyT-UNC. *Becario post-doctoral CONICET; ** Becario "Dr. Orías" - FCM-UNC.

POS 11-13

DEHP (di-2-etilhexilftalato) modifica el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal en ratas prepúberes expuestas "intra útero" y durante la lactancia.

Silvia Carbone, Berta Szwarcfarb, Roxana Reynoso, Osvaldo Ponzo, Nancy Cardoso, Jaime Moguilevsky y Pablo Scacchi. Lab.Endocrinología, Dpto.Fisiología, Fac. Medicina, UBA, CONICET, Argentina.

La exposición al DEHP, usado como "plastificante o suavizante"en la fabricación de productos de PVC blando, puede alterar el sistema reproductor actuando como disruptor endocrino e inhibiendo la esteroideogénesis gonadal. Se estudió el efecto del DEHP en el desarrollo puberal de ratas macho y hembra (n= 10 por grupo) prepúberes (15 días) expuestas al tóxico desde su concepción. Fue administrado en el agua de bebida (300 µl/l) a la rata madre desde el inicio de la preñez y la lactancia. Se midieron LH y FSH por RIA (ng/ml) y la concentración hipotalámica (pmol/mg tejido) de aminoácidos neurotransmisores: aspartato (ASP) y ácido gamma-aminobutírico (GABA), por HPLC. En las hembras expuestas a DEHP no se observó cambios en los niveles de FSH (1286,36±84.23 vs 1272,22±55.9), detectándose aumento significativo respecto a los controles en LH (140±2.87 vs 22.5±3.9 $p<0.001$); correlacionándose con incremento de ASP (2184±44.7 vs 1347±118.4, $p<0.001$) y GABA (333.4±46.06 vs 177.5±19.12 $p<0.001$), que es estimulante en rata hembra prepúber. En los machos tratados con DEHP hubo aumento de LH (39.66±5.35 vs 17.2±2.21 $p<0.001$) y FSH (190±24.3 vs 32.2±8.1 $p<0.001$), correspondiéndose con incremento de ASP (4247±219.82 vs 2619.6±269.93, $p<0.001$) y descenso del tono GABAérgico inhibitorio respecto a los controles (350.28±24.89 vs 488.56± 27.9 $p<0.01$). El peso (mg) de testículos disminuyó (109.77±4.37 vs 132.42±11.94) y se detectó criptorquidea en el 25 % de los machos expuestos al DEHP. Conclusión: la exposición pre y post natal al DEHP produce alteraciones en el eje hipotálamo-hipofisario-gonadal de ratas prepúberes. Se sugiere que el DEHP podría alterar los mecanismos neuroendocrinos del desarrollo puberal actuando a nivel hipotalámico.

POS 11-14

Estudio de la agregación eritrocitaria en la menopausia.

[1]Carrara, Pablo; [2]Bertoluzzo, Stella; [1]Mengarelli, Guillermo; [1]Spengler, M.Isabel. [1]Cátedra de Física Biológica, Facultad de Ciencias Médicas; [2]Cátedra de Física, Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas; Universidad Nacional de Rosario. npablont@hotmail.com

La agregación eritrocitaria (AE) depende de factores opuestos: las fuerzas repulsivas entre las células cargadas negativamente, las fuerzas de shear desagregantes generadas por el flujo y la adhesión entre las células inducida por las proteínas plasmáticas, en especial el fibrinógeno, que forman puentes entre las células vecinas. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la AE en relación a la menopausia. Para ello se analizó la tendencia agregante de la sangre, la concentración de fibrinógeno plasmático (F) y la fluidez lipídica de la membrana eritrocitaria (f) en un grupo de mujeres sanas no menopáusicas (n=20) y menopáusicas (n=43), analizándose en este último grupo, las posibles correlaciones entre las variables en estudio. La AE se estimó midiendo la variación en el tiempo de la luz transmitida a través de una muestra de sangre entera, determinándose dos parámetros: s_0/n_0 que estima el tamaño promedio de los agregados, y $2k_2n_0$ que estima la velocidad inicial del proceso. El F se midió por método gravimétrico y la f por el método de polarización de fluorescencia utilizándose TMA-DPH (Trimethylammonium-Diphenylhexatriene) como marcador fluorescente, calculándose el coeficiente de anisotropía (r), el cual se relaciona inversamente con f. Los resultados mostraron que las mujeres menopàusicas presentaron valores significativamente mayores con respecto a las mujeres no menopàusicas de: $2k_2n_0$ (0,56 ± 0,15 vs 0,32 ± 0,09; $p<0,05$), s_0/n_0 (1,86 ± 0,05 vs 1,82 ± 0,02; $p<0,01$), F

(351 ± 82 mg/dl vs 286 ± 31 mg/dl; p<0,0001) y r (0,18 ± 0,03 vs 0,15 ± 0,02; p<0,01). Además se encontró una correlación significativamente positiva entre F y $2k_2n_0$ (r=0,66; p<0,0001), entre F y s_0/n_0 (r=0,27; p<0,05) y entre F y r (r=0,23; P<0,05). Estos resultados señalan al F como posible responsable del aumento de la AE en la menopausia. Además la correlación positiva entre F y r sugiere que la unión del F a la superficie de la membrana del eritrocito provoca cambios en las interacciones lípidos-proteínas que ocasionan una disminución en la f. Estos eventos podrían explicar, en parte, el mayor riesgo trombòtico presente en la menopausia.

POS 11-15

Efecto de componentes de la secreción oviductal en el proceso de la fecundación. Crespo, CA; Medina MF; Ramos I; Fernández SN. Dpto. de Biología del Desarrollo, INSIBIO (CONICET-UNT). Chacabuco 461. 4000, Tucumán, Argentina *.ccrespo@fbqf.unt.edu.ar*

En el sistema reproductor de la hembra de anfibios, la pars convoluta (PC) oviductal sintetiza y secreta un producto gelatinoso que se deposita y organiza en capas alrededor de los ovocitos durante su tránsito por esta porción del ducto. Se ha demostrado que estas envolturas, indispensables para la fecundación, están constituidas por una estructura estable asociada a moléculas que difunden al medio de inseminación. En *Bufo arenarum* se puso en evidencia que entre los componentes de este factor difusible (FD) se encuentra el Ca^{2+} y componentes proteicos, glicoproteicos y proteoglicanos. Respecto a sus funciones sólo se demostró que el catión participa en la inducción de la reacción acrosómica (RA). El presente trabajo plantea como objetivo aislar y purificar los componentes proteicos del FD con el fin de analizar su rol biológico en el proceso de la fecundación. Para llevar a cabo este estudio, a partir del FD se purificaron por electroforesis en SDS-PAGE y electroelución tres fracciones proteicas: 200 a 80 KDa, 80 a 70 KDa y 70 a 15 KDa. Luego se analizó el efecto del FD y de las tres fracciones sobre los gametos a través de ensayos de fecundación "in vitro". Los resultados indican que la presencia tanto del FD como de la fracción proteica de 80 a 70KDa en el medio de inseminación determina modificaciones características en la superficie de los ovocitos, idénticas a las inducidas por el extracto de lisinas acrosomales puras que fisiológicamente son liberadas durante la RA. Se descartó acción directa sobre el gameto femenino, dado que este efecto no se visualiza en ausencia de espermatozoides. Tampoco se reveló efecto lítico cuando la inseminación se realizó con espermatozoides previamente tratados con la fracción de 80 a 70 KDa. Los resultados obtenidos sugieren que esta fracción, presente en el FD, actuaría sobre el espermatozoide promoviendo la liberación del contenido acrosomal, probablemente asociado al Ca^{2+}.

POS 11-16

Co-expression of leptin and estrogen receptor - β (ER-β) in arcuate nucleus, medial preoptic area and dorsal medial hypothalamic nucleus. DelBianco-Borges, B; Franci, CR. Departamento de Fisiologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto SP, Brazil.

Leptin is a hormone produced in adipose tissue and other areas including the brain. The link between leptin and reproduction was identified when a homozygous mutation in the leptin gene induced the obesity associated to the infertility. This condition was reverted by leptin administration. Estrogen can stimulate leptin secretion from *in vitro* adipocytes. In the present work, we used a double-immunofluorescence to verify a putative co-expression of leptin with estrogen receptor (ER) beta in the arcuate nucleus (ARC), medial preoptic area (MPOA), dorsal medial hypothalamic nucleus (DMH) and ventral medial hypothalamic nucleus (VMH) since these areas are involved to control reproductive function and energy metabolism. Wistar female rats (200-250g) were maintained in controlled conditions (12 h light/12 h dark), with food and water *ad libitum*. Vaginal smear was done daily in order to analyze the estrous cycle phases. Animals with at least 3 consecutive regular cycles were used. The animals in metestrus and proestrus were anaesthetized (16-17 h) and perfused with phosphate-buffered saline (pH 7.4) followed by 4% paraformaldehyde (pH 7.4). Brains were post-fixed in paraformaldehyde and cut (14μm). For immunofluorescence, antibodies against leptin (dilution 1/1.000; Santa Cruz Biotechnology, USA) and ER-β (1/300; Novocastra, UK) were utilized. Our results showed the co-expression of the leptin with ER-β in neurons of arcuate nucleus, medial preoptic area and dorsal medial hypothalamic nucleus but not ventral medial hypothalamic nucleus in both phases. Leptin has direct or indirect actions on GnRH and gonadotropins secretion, but the estrogen action in this mechanism is unknown. In conclusion, estrogen may be a direct modulator of the leptin release from neurons in the preoptic-hypothalamic region that integrate the control mechanisms of reproductive function and energy metabolism. *Financial support:* FAPESP, CAPES and CNPq in Brazil.

POS 11-17

Ondas de calcio (ICW) participan en la propagación de estímulos químicos y mecánicos en el epitelio ciliado del oviducto. Karla Droguett, Karen Godoy, Trinidad Sánchez, Manuel Villalón. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El transporte mucociliar en el epitelio del oviducto de mamíferos es fundamental en el proceso reproductivo y depende en parte de la actividad coordinada de los cilios. En los epitelios, la integración y coordinación de las funciones celulares es facilitada por la propagación de señales a través ICW. Se han propuesto dos mecanismos de propagación para las ICW, las que son mediadas por nucleótidos extracelulares, principalmente ATP, y aquellas mediadas por inositol 1, 4, 5-trifosfato (IP3), vía uniones en hendiduras (UH). A pesar de la

importancia de estas vías de comunicación intercelular, éstas no han sido estudiadas en el epitelio del tracto reproductivo. El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de ICW en respuesta a estímulos químicos y mecánicos en el epitelio del oviducto. Métodos: Cultivos primarios de epitelio de oviducto de rata, cargados con el indicador de calcio Fura2AM, fueron estimulados químicamente con ATP, mediante un sistema de microinyección extracelular (Volumen de 1,2 nL y de 10, 25 y 100 μM [ATP]). La estimulación mecánica de una sola célula del cultivo, se realizó con una micropipeta de vidrio conectada a un micromanipulador. Se registraron imágenes fluorescentes de la $[Ca^{2+}]_i$ y se calculó la velocidad de propagación de la ICW. Resultados: La estimulación mecánica y las aplicaciones locales de ATP generan un aumento de la $[Ca^{2+}]_i$ que se propaga como una ICW a las células vecinas. La velocidad de propagación de la ICW disminuyó después de un estímulo mecánico en presencia de ácido 18β-glicirriténico (40 μM) o ácido 18α-glicirriténico (35 μM), bloqueadores de las UH. Esta disminución también se observó con apirasa (50 U/ml), una fosfatasa de ATP y con suramina (50 μM), un bloqueador de receptores de ATP. Nuestros resultados demuestran la presencia de ICW en el epitelio del oviducto y sugieren que la propagación de ICW depende de las UH y de nucleótidos extracelulares como el ATP. FONDECYT 1040804.

POS 11-18

Conducta sexual y consumo de alcohol: conductas hedónicamente diferentes que se asocian con incrementos en los niveles de dopamina y con diferente correlación interaccumbens en la rata macho. Marisela Hernández-González, Miguel Angel Guevara, Mariana Martínez, Lab. Neurofisiología de la Conducta Reproductiva, Inst. de Neurociencias, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco. México.

La conducta sexual de la rata macho es una conducta motivada típica de la especie cuyas propiedades reforzantes son fácilmente demostrables; en tanto que en relación al consumo de alcohol es difícil hablar de reforzamiento cuando se trata de la rata, ya que no se ha encontrado una marcada preferencia hacia su consumo. Aún cuando la conducta sexual y el consumo del alcohol se asocian con un evento fisiológico similar (provocan un aumento en los niveles de dopamina (DA) en el Núcleo Accumbens (Acc) y en el Area Tegmental ventral (ATV), tales situaciones tienen un significado motivacional o reforzante diferente para la rata. Considerando lo anterior, en este estudio registramos simultáneamente la actividad eléctrica del ATV y del Acc durante dos situaciones motivacionalmente diferentes, la conducta sexual y la intoxicación forzada con alcohol. En ratas macho Wistar implantadas bilateralmente en el Acc y en el ATV se registró el EEG durante el periodo postintromisión (PI, estado placentero) y después de una administración forzada de alcohol (0.75 g/kg, i.p; estado displacentero). La correlación (r) interaccumbens durante el periodo PI presentó un incremento en la banda de 8-12 Hz, mientras que en relación al consumo forzado de alcohol (EtOHF), la r interaccumbens disminuyó en las tres bandas de frecuencia (6-7, 8-12 y 13-21 Hz). La mayor correlación interaccumbens en la banda 8-12 Hz, pudiera representar el procesamiento característico de la información somatosensorial de origen peneano durante la intromisión, lo cual coadyuvaría a la mayor motivación sexual, en tanto que la menor correlación del EEG entre los núcleos accumbens pudiera reflejar el estado no placentero que resulta de la administración forzada de alcohol. En este trabajo se demostró que aún cuando la conducta sexual y el consumo de alcohol se asocian con incrementos en los niveles de DA en el Acc y en el ATV, la funcionalidad de estas estructuras es diferente, lo cual probablemente se asocie con los diferentes estados motivo-emocionales que caracterizan a estos estados fisiológicos.

POS 11-19

Neutral alpha-glucosidase activity in mouse: a marker of epididymal function. Martini Ana Carolina, Molina Rosa I, Vincenti Laura M, Santillán María Emilia, Stutz Graciela, Ruiz Rubén D, Fiol de Cuneo Marta. Instituto de Fisiología, Fac Cs Méd, Universidad Nacional de Córdoba. Lab Androl Reprod (LAR). Córdoba, Argentina.

Neutral alpha-glucosidase (NAG) activity is considered a functional marker of epididymis in several species, including humans. Although NAG has been found in rat epididymis, no enzyme activity has been detected in mice. The objectives of our study were to evaluate NAG activity in mice epididymis and the feasibility of using it as functional epididymal marker. To evaluate mouse NAG activity, epididymis (whole or in parts) were incubated in presence or absence of testosterone (T; 10^{-5} M) and compared with known positive controls. To explore the feasibility of using mouse epididymal NAG activity as functional marker, we compared enzyme activity from well-fed or undernourished mice (50% food restriction for 21 days), model that alters epididymal sperm maturation processes. Activity of NAG (evaluated by a spectrophotometric technique) revealed that: there exists NAG activity in mice epididymis, being higher in the caput portion (caput: 30.7±4.2, corpus: 11.7±2.8 and cauda: 10.6±4.4 mU/g of tissue; n=4, caput vs corpus or cauda: $p< 0.05$). In undernourished mice, we confirmed the epididymal sperm maturation alterations previously observed in our laboratory (increase in immature spermatozoa and diminution in sperm concentration); concordantly, epididymal NAG activity was lesser than in control ones and it increased by addition of T to the incubation medium (control: 22.47±2.59, n=7; 50 % undernourished: 12.45±0.98, n=9; 50 % undernourished + T: 22.45±3.73 mU/g of tissue, n=9; $p< 0.05$ vs 50 % undernourished). In conclusion, in mice epididymis we detected NAG activity; moreover, changes in such enzyme activity could be responsible -among other factors-, for the alterations in sperm epididymal maturation processes previously described in undernourished mice. G*rants from SECyT-*

UNC and Agencia Córdoba Ciencia .SE.

POS 11-20

Changes in progesterone receptor expression in hypotalamic dopaminergic neurons during the afternoon of estrus. Cristiane Mota Leite, Raphael Escorsim Szawka, Janete Aparecida Anselmo Franci. Depto de Fisiologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e Depto de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Brasil.

It is well established that dopaminergic neurons of hypothalamus tonically inhibit prolactin (PRL) secretion and that these neurons are regulated by progesterone (P_4). Since a secondary surge of PRL that generally occur at 15 h on afternoon of estrus had been characterized, the aim of this study was to evaluate progesterone receptor (PR) expression in dopaminergic neurons of arcuate nucleus (ARC) and periventricular nucleus (PeVN) during the afternoon of estrus. Regularly cycling female Wistar rats were perfused every 2 hours from 10 to 20 h of estrus day. Brain sections containing the ARC and PeVN nuclei were immunocytochemically processed to access tyrosine hydroxylase (TH) and PR immunoreactive (ir) neurons. Data showed that in dopaminergic neurons of rostral, dorsomedial and caudal regions of ARC the percentage of PR-ir neurons decreased gradually from a higher expression at 10 h and reached its minimum level at 16h, which was followed by an increase at 20 h. However, in ventrolateral region of ARC the PR expression was reduced at 16 h and remained unchanged until 20 h. In dopaminergic neurons of PeVN, the percentage of PR-ir neurons decreased at 14 and 16 h and it was followed by an increase at 20 h. These changes in PR expression suggest an inhibitory role for P_4 on the PRL secretion; thus, the decrease of PR expression on the estrus afternoon would facilitate the trigger of the secondary surge of PRL on this period.

POS 11-21

Inhibición de la unión espermatozoide-oviducto por anandamida (AEA) en bovinos. Maximiliano Rapanelli, Silvia Billi, Ana Franchi y Silvina Pérez Martínez. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CONICET-UBA)

Los endocanabinoides (ECB) modulan diversas funciones reproductivas en mamíferos. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la participación de la AEA, principal ECB, en la interacción espermatozoide-oviducto bovino. Para ello se investigó 1) si los espermatozoides (ESP) y el oviducto bovinos expresan los diferentes subtipos de receptores (CB1;CB2) para ECB, 2) si el oviducto bovino es capaz de sintetizar AEA, 3) el efecto de la AEA en la interacción espermatozoide-oviducto *in vitro*. Se realizaron cocultivos de ESP (provenientes de semen bovino congelado) con células del epitelio oviductal (CEO), obtenidas a partir de folículos oviductales incubados por 7 días en M199 a 39 ºC. Los resultados, observados mediante las técnicas de RT-PCR, Western Blot e inmunocitoquímica, muestran que tanto el ESP bovino como el oviducto expresan CB1 (281pb; 71 kDa) y CB2 (187 pb; 38 kDa). En el ESP estos receptores se localizan en la cabeza (región acrosomal y segmento ecuatorial) y la cola del mismo. Los estudios de microscopía confocal indicaron que en el oviducto CB1 y CB2 se localizan en el citoplasma observándose una marcación fuerte cerca de la membrana plasmática. El oviducto bovino sintetiza AEA en la ampolla e istmo (3,49±0,72 y 0,47±0,2 nmol [^{14}C]AEA/h/mg proteína, respectivamente). La incubación con AEA o met-AEA (análogo estable de AEA) produjo una disminución de la unión de los ESP a las CEO (Control: 70,4±7,8; AEA 10^{-9} M: 42,2±3,2; met-AEA 10^{-9} M: 45,9±3,9 ESP/0,5 mm^2; $p<0,01$). La incubación con SR141716 (antagonista de CB1) revirtió el efecto de AEA, mientras que SR144528, antagonista de CB2 no tuvo efecto. Concluimos que el sistema ECB está presente en ESP y oviducto bovinos y que la AEA modularía negativamente la interacción entre ambos, posiblemente a través de los receptores CB1. Futuros estudios indicarán si dicha molécula puede actuar como un factor decapacitante e inhibir la unión de los ESP al oviducto o si participa en la liberación de los mismos de las CEO para la fertilización.

POS 11-22

La anandamida (AEA) regula la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) uterina durante la implantación en la rata. Micaela S. Sordelli, Silvia Billi, Ana Franchi, María Laura Ribeiro. Laboratorio de Fisiopatología de la Preñez y el Parto, CEFYBO (CONICET - UBA), Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

El NO y la AEA son dos importantes mediadores vinculados con el proceso de implantación. El NO es sintetizado por la NOS. La AEA es un endocanabinoide sintetizado por el útero murino durante la preñez temprana y ejerce sus efectos a través de sus receptores CB1/CB2. Los objetivos de este trabajo fueron: 1) caracterizar la síntesis de NO durante la preñez temprana; 2) estudiar si la AEA regula la producción de NO en este período. Se observó que la síntesis de NO no varió en los días 1 a 5 de gestación (0.50±0.03 pmoles citrulina/mg ph/h). En el día 6, la síntesis de NO en los sitios de implantación fue similar a la observada en el día 5; sin embargo, en los sitios interimplantatorios, la producción de NO fue significativamente menor ($p<0.001$), sugiriendo que este mediador es necesario para la implantación. En el modelo de pseudopreñez (psp), donde se mimetiza la preñez en ausencia de embriones, no se observaron cambios en la síntesis de NO como en la gestación normal. En el modelo de implantación tardía, el estradiol, que activa los blastocitos, aumentó la producción de NO (0.76±0.05 vs 0.58±0.01). Estos resultados sugieren que el blastocito activo aumentaría la síntesis uterina de NO durante la implantación. Entonces estudiamos el efecto de la AEA sobre el NO en hembras psp. La incubación de úteros en día 5 de psp con AEA 10(-9)M inhibió la

síntesis de NO ($p<0.001$). Este efecto fue revertido por la co-incubación con SR144528 (antagonista de CB2). Cuando se administró AEA 0.03 mg/kg por vía i.p. a hembras psp en día 5, también se observó una inhibición sobre la actividad de la NOS ($p<0.01$). En conjunto, estos resultados sugieren que un aumento en la AEA disminuye la producción de NO necesaria para que la implantación sea exitosa y que el embrión participa en la regulación de la NOS uterina.

POS 11-23

Estudio preliminar sobre el efecto de dietas suplementadas con aceite de maíz o soja, en el desarrollo y reproducción de ratones Albino swiss. Laura Vincenti, Graciela Stutz, M.Emilia Santillán, Ana C.Martini, Valeria Carlini, Susana Rubiales de Barioglio, Rubén D.Ruiz, Marta H. Fiol de Cuneo. Cátedra de Fisiología Humana, FCM y Departamento de Farmacología, FCQ.UNC.

Los trastornos nutricionales provocados por disbalances en los componentes de la dieta pueden impactar sobre la salud, modulando diversas funciones corporales, como el desarrollo y la reproducción. El presente trabajo tiene como objetivo evaluar los posibles efectos de dietas suplementadas con aceite de maíz o soja (ricos en ácidos grasos omega 6 y 3, respectivamente) sobre parámetros morfométricos, reproductivos y conductuales. Se utilizaron ratones de ambos sexos, alimentados hasta la adultez con la misma dieta que sus madres en la gestación: a) comida comercial **-**C-; b) C+10% de aceite de maíz **-**CM- y c) C+10% de aceite de soja **-**CS-. Entre los parámetros morfométricos se evaluó peso corporal (PC), de cerebro, testículos y vesículas seminales. Se registró comienzo de pubertad, continuidad y duración de ciclos estrales, actividad funcional espermática (motilidad, vitalidad, prueba de resistencia osmótica, estado acrosomal) y porcentaje de fertilización in vivo (FIVO). Al llegar a la adultez se realizaron dosajes de lípidos plasmáticos y tests de memoria. En CS, el PC (g) disminuyó significativamente desde el destete, alcanzando en la adultez: 24.12±0.05 (n=4) vs 26.29±0.56 (C;n=6) en las hembras y 28.27±1.74 (n=2) vs 33.34±0.69 (C;n=5) y 32.22±0.58 (CM; n=5) en los machos. En los parámetros reproductivos, se observaron diferencias significativas en el porcentaje de espermatozides móviles de CM: 73.40±2.66 (n=5) vs 88.00±1.97 (C;n=5) y 84.00±3.00 (CS;n=2). La FIVO de hembras CM evidenció una reducción del éxito reproductivo. No hubo diferencias en los lípidos plasmáticos. En lo que respecta a la memoria, hubo una reducción en el grupo CS vs C y CM, en ambos sexos. Conclusión: si bien el disbalance lipídico provocado por ambos aceites afecta diferentes aspectos del desarrollo y la reproducción, para concluir con mayor certeza sería necesario repetir estos ensayos en nuevos lotes.

POS 11-24

Interacción del sistema endocannabinoide con el óxido nítrico (NO)/NOsintasas (NOS) y prostaglandinas (PGs)/ciclooxigenasas (COX) en el útero de ratón durante la preñez. Maximiliano Cella, Silvia Billi, Ana Franchi. Lab. de fisiopatología de la preñez y el parto. Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos. CONICET-UBA, Argentina.

Los endocannabinoides actúan como ligandos endógenos de los receptores de cannabinoides (CB). Al igual que el NO y las PGs han sido implicados en la fisiopatología de la preñez, y se han descripto interacciones entre estos mediadores en distintos sistemas. Por ello el objetivo de este trabajo fue estudiar las posibles interrelaciones de los caminos biosintéticos de estos mediadores en el útero de ratonas preñadas. La incubación *in vitro* con anandamida (AEA), el principal endocannabinoide, aumentó la síntesis de PGE_2 y $PGF_{2\alpha}$ (Control=2,6±0,3 y 20,3±1,5 ng PG/ mg tej. vs. AEA=6,2±0,7 y 30,8±1,1). A su vez, el tratamiento de los animales con meloxicam, inhibidor de las COX-2, enzima responsable de la síntesis de PGs, produjo un aumento en la incorporación de ácido araquidónico a anandamida (Control=1,1±0,1 nmol AEA/h x mg prot. vs. Meloxicam=1,7±0,2). La actividad de la NOS se vio disminuida por la incubación de fragmentos uterinos con AEA 10^{-9}M (Control=23,4±0,8 fmol [^{14}C]-citrulina/mg tej. x 15 min. vs. AEA=11,2±3,2), hecho que fue bloqueado por la co-incubación con un antagonista de los receptores CB1 (AM251=19,9±3,4). Por otro lado, la incubación de fragmentos uterinos con un dador de NO (DETA/NO) resultó en un incremento de la síntesis de anandamida (Control=1,3±0,1. vs. DETA/NO=2,5±0,3). El mismo fue revertido por la co-incubación con hemoglobina (1,1±0,3), un secuestrador de NO. Estos resultados ponen en evidencia regulaciones entre las vías de síntesis del NO, las PGs y la AEA uterinas durante la preñez, lo que probablemente tenga importantes implicancias en el mantenimiento de la quiescencia uterina necesaria para una gestación exitosa y en el inicio del parto.

POS 11-25

Preliminary characterizations of ram seminal plasma proteins that interacts with sperm surface. Falcinelli Andrea[1-2], Alberio Ricardo[2], and Cesari Andreina[1]. [1]Instituto de Investigaciones Biológicas, UNMdP, Argentina. [2]Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción, EEA-INTA-Balcarce, Argentina.

Ram sperm cryopreservation produce membrane alterations that resembles a physiological capacitation, but it is premature because while they are ready to fertilize the ovum, they still have to travel across the cervix, reducing the gamete viability and fertilizing ability. The addition of seminal plasma (SP) to frozen-thawed semen reverts and prevents this effect, by stabilization of the plasma membrane (*Barrios et al., 2005, J. of Androl., 26(4): 539*). Our group has probed by SDS-PAGE, that the SP composition do not vary neither with the conservation temperature (-18 ºC and -196 ºC) nor between breeds (Frison and Corriedale); but it does differ along the year having the autumn a differential protein pattern.

In order to study SP proteins that interact with the sperm surface, we performed a sperm-SP proteins interaction assay (IA). The protein pattern of incubated sperm did not differ from that without treatment. The amount of proteins that bound to the sperm differ among seasons (16.1; 16.7 and 71.7 kDa reduced and 17.4; 23.3; 40 and 48.3 kDa increased in autumn). We concluded that there is a specific interaction, because the SP proteins bound to the sperm surface differed from that in the supernadant. The conservation temperature and the breed from which SP was obtained did not affect this interaction pattern. To advance in the characterization, interaction assays with immobilized proteins were performed. We isolated six SP proteins (16.1; 16.7; 17.4; 23.3; 40; 67.6 and 71.7 kDa) that interact with immobilized sperm membrane proteins, that almost correlate with the previous assay. No results were obtained when we analyzed the sperm proteins that interact with immobilized SP proteins, neither when entire SP or with heparin affinity purified proteins. Further studies are needed to complete the characterization of the isolated SP proteins that interact with the surface sperm.

POS 11-26

Efecto de la anandamida (AEA) sobre la síntesis de óxido nítrico (NO) en placenta de rata. Mariana Farina, Silvia Billi, Guadagnoli Tamara, Marcos Cervini, Ana María Franchi. Laboratorio de Fisiopatología de la Preñez y el Parto, CEFYBO (CONICET - UBA), Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

La placenta es un órgano crítico, dado que es responsable de transferir nutrientes, iones y lípidos desde la madre al feto. La AEA es uno de los principales endocannabinoides descriptos hasta el momento. El NO es un activo vasodilatador de la vasculatura de la placenta que se produce por acción de la NO sintasa (NOS). Trabajos recientes demuestran que la AEA ejerce efectos duales sobre las NOS en varios sistemas. Objetivos: 1) Caracterizar el sistema endocannabinoide en placenta de rata; 2) Estudiar el efecto de AEA sobre la síntesis de NO en placenta. Se analizó la síntesis de AEA a partir de explantos de placentas de día 13, 18, 21 y 22. Los niveles de AEA aumentan durante la gestación, siendo máximos en el día 21 ($p<0,05$ vs día 22; $p<0,001$ vs día 13 y 18). Adicionalmente, detectamos la presencia de receptores para cannabinoides (CB1 y CB2) y de la enzima que metaboliza la AEA (FAAH) por western blot. La placenta presenta una elevada actividad de NOS en el día 13, esta disminuye significativamente hacia el día 18 (10,75±0,30 vs 2,35±0,09 pmol de citrulina/mg prot./15min), manteniéndose en estos valores hasta el final de la gestación. Fragmentos de placenta de día 18 se incubaron con diferentes dosis de AEA (10^{-7},10^{-8} y 10^{-9}M), observándose que la AEA(10^{-9}M) disminuyó significativamente la actividad de NOS (2,36±0,08 vs 1,48±0,16, $p<0.01$). Este efecto es revertido sólo cuando se co-incuba conjuntamente con antagonistas de receptores CB1 (AM 251, 20uM) y CB2 (AM 630, 20uM). Conclusión: El sistema endocannabinoide (AEA/CB/FAAH) se encuentra presente en la placenta de rata. La AEA inhibe significativamente la producción de NO en la preñez tardía, sugiriendo que este endocannabinoide podría ser uno de las moléculas endógenas responsables de la disminución de NO en la placenta de rata hacia el final de la gestación.

POS 11-27

Efeito da Estimulação Neonatal Sobre a Estrutura e Desenvolvimento Folicular Ovariano de Ratas Adultas. Rosana Maria Frey[3], Cármen M. Gomes[3], Marcelo P. Bernuci[2], Janete A. Anselmo-Franci[2], Hernán E. Lara[1], Aldo B. Lucion[3], Gilberto Luiz Sanvitto[3], [1]Faculdade de Ciências Químicas e Farmacêuticas, Universidade do Chile, [2]Laboratório de Morfologia, Estomatologia e Fisiologia FORP - USP, SP, [3]Laboratório de Neuroendocrinologia do Comportamento, Departamento de Fisiologia, UFRGS, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

As duas primeiras semanas após o nascimento representam um período crítico para o desenvolvimento neural em ratos, a estimulação precoce induz mudanças estruturais no Sistema Nervoso Central e comportamentais no adulto, inclusive em áreas responsáveis pelo controle da reprodução. A manipulação neonatal reduz a capacidade reprodutiva de fêmeas através da diminuição do comportamento sexual, do bloqueio da ovulação e promove um atraso na instalação da puberdade. O objetivo desse trabalho foi estudar os efeitos da manipulação neonatal sobre a função ovariana de ratas. Animais foram submetidos à manipulação neonatal durante 1 minuto, nos dez primeiros dias de vida pós-natal, e após 3 ciclos estrais regulares os ovários foram retirados, na fase do proestro, para análise histológica dos mesmos (n= 6 para cada grupo). A análise estrutural dos ovários das ratas manipuladas mostrou que não houve diferença estatisticamente significativa no peso ovariano, (44,2 mg ± 0,001 para ratas não manipuladas, 45 mg ± 0,002 para ratas manipuladas), no número total de folículos antrais por ovário (19,5 ± 1 para ratas não manipuladas, 23,2 ± 2 para ratas manipuladas) e no número de folículos antrais atrésicos por ovário (12 ± 0,4 para ratas não manipuladas, 11,6 ± 0,8 para ratas manipuladas). O número de folículos antrais normais por ovário (7,7 ± 0,6 para ratas não manipuladas, 11,6 ± 0,8 para ratas manipuladas) foi maior em ratas manipuladas quando comparados com ratas não manipuladas. Esses resultados sugerem que a manipulação neonatal pode induzir alterações no desenvolvimento folicular.

Financiamento: FAPESP, CAPES, CNPq.

POS 11-28

Las tirosinas cinasas, regulan la división celular inducida por la FSH en testículos. embrionarios de aves. Pedro N. Velázquez, Irma Peralta. Depto. de Biología Celular y Tisular, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.

En algunos vertebrados se ha demostrado la utilización de vias alternativas de señalización intracelular, diferentes a la vía AMPc-PKA, que participan en la diferenciación y fisiología gonadal. El objetivo del presente trabajo fue establecer la vía de señalización intracelular utilizada por la FSH, que estimula la proliferación celular en testículos embrionarios de aves con 18 días de incubación. Se cultivaron gónadas disociadas, sobre membranas de policarbonato flotando sobre medio de cutlivo condicionado (DMEM + BSA), adicionando FSH y/o reguladores de la actividad de PKA (forskolina y AMPc), de la cinasa de residuos de tirosina (PTK) (genisteina, lavendustina y herbimicina A) y de la cinasa de residuos de serina/treonina PKC (PMA). Se adicionó 0.1 μCi de ^{3}H-timidina a todos los grupos para evaluar la proliferación celular, cuantificando la timidina incorporada a las 60 horas de cultivo. La hFSH incrementó significativamente la proliferación celular, mientras que los fármacos reguladores de PKC y PKA, no produjeron un incremento importante en la incorporación de timidina tritiada. La herbimicina A, (inhibidor de tirosinas cinasas), produjo un incremento estadísticamente significativo en la proliferación celular con respecto al grupo control. Lo anterior nos sugiere que la FSH, probablemente no utilize la vía de AMPc-PKA, como señal intracelular primaria, al no producir los reguladores de esta vía (AMPc y forscolina) un estímulo significativo en la proliferación celular, mientras que la herbimicina A, que es un inhibidor específico de cinasas de residuos de tirosina citoplásmicas, produjo el mayor incremento en la proliferación celular, sugiriendo que la vía de PTKs, es utilizada para la inhibición de la división celular durante el desarrollo embrionario del testículo de aves. Proyecto financiado por DGAPA (PAPIIT IN221502-3 y IN213306-3)

POS 11-29

Reproductive performance of male rats exposed neonatally to an androgenic supplementation. Micheloto, FHM; Garcia, PC; Agati, LB; Piffer, RC; Dela Cruz, C; Gerardin, DCC; Pereira OCM. Departement of Pharmacology, IB-Botucatu, UNESP, Brazil.

Physiological levels of perinatal androgens are important to assure the hypothalamic masculinization of male rats. The aim of this study was to evaluate the sexual motivation and sexual behavior of the male Wistar rats that at birth were exposed to supplementation with testosterone propionate, 0,1 μg s.c. At adult life (110 days old) 10 rats/group, control (CT) and supplemented (SP) were used. The sexual motivation test apparatus consists in a circular arena with 2 cages in opposite sides, with 2 stimulus animals; one with a sexually active male and another with an estrous female. During 20 min were evaluated and recorded the number of visits, duration of each visit to each animal stimulus and the total time spent in them. For the copulatory activity animals were placed in a cage with a receptive female. The latency of the 1st intromission, 1st ejaculation and the number of both were measured in 30 min. The Student´s "*t*" test was performed to compare average ± SEM, $p<0.05$. SP remained more time (seconds) in each visit to the female (CT 31.50 ±2.78, SP 48.25 ±6.84*, $p<0.05$) and visited less the male (CT 16.20 ±1.47, SP 10.60 ±1.08**, $p<0.01$) than CT. Despite the fact that SP showed a lower number of visits to the female zone (CT 20.70 ±1.2, SP 15.70 ±1.0*, $p<0.05$), they .didn't remain less time in this zone (CT 663.60 ±52.86, SP 715.30 ±72.55, $p>0.05$). Though a slightly improvement, there weren't significant differences in the latencies of the 1st intromission (CT 259.50 ±96.72 s, SP 113.50 ±56.76 s), and 1st ejaculation (CT 820.40 ±146.08 s, SP 809.00 ±139.70 s), neither in the number of intromissions pre (CT 14.90 ±5.46, SP 22.90 ±3.90) nor in post ejaculation (CT 11.20 ±5.74, SP 16.30 ±5.21) and also in the number of ejaculations between groups (CT 1.10 ±0.53, SP 1.50 ±0.42), $p>0.05$. This data show that increased testosterone level at birth does not damage the sexual behavior parameters and promote improvement. More studies with these experients sexually animals will be performed to prove this hypothesis. Supported by CAPES and FAPESP (process 05/58348-6R)

POS 11-30

Probable efecto del disruptor endocrino (DE) bisfenol A (BPA) sobre los mecanismos de retroalimentación durante el desarrollo puberal en la rata hembra. Nancy Cardoso, Berta Szwarcfarb, Silvia Carbone, Osvaldo Ponzo, Jaime Moguilevsky, Pablo Scacchi, Roxana Reynoso. Laboratorio de Endocrinología. Departamento de Fisiología. Fac. de Medicina. UBA - CONICET

El bisfenol A es utilizado en la fabricación de plásticos policarbonatos que forman parte de la mayoría de los envases alimentarios, en resinas epoxi que recubren el interior de latas de conserva, en pegamentos de uso habitual y en algunos polímeros de uso dental. El BPA es un disruptor endocrino con efecto estrogénico y antiandrogénico. En el presente trabajo estudiamos el efecto de este DE sobre el eje reproductor en ratas hembra (n=8-10 por grupo), prepúberes y peripúberes, expuestas al mismo desde la concepción. BPA fue administrado a la rata madre en el agua de bebida (dosis: 2,5mg/kg/día), desde el inicio de la preñez y durante la lactancia, suministrándolo a las crías luego del destete y hasta el momento del sacrificio. Se determinaron los niveles de LH y FSH (RIA, ng/ml), y se evaluó el peso de útero y ovarios. Tanto LH como FSH descendieron significativamente en las hembras prepúberes (96 ±8,5 vs 32 ± 4,0, $p<0.001$); (348±25 vs 280±6,3, $p< 0.01$). En los animales peripúberes, los niveles de LH se elevaron significativamente (12,3 ± 0,2 vs 33±1,0, $p<0.001$), mientras que los de FSH no mostraron cambios significativos. Los pesos de útero y ovarios no se modificaron en los animales prepúberes, en peripúberes tanto el peso de útero como el de ovarios se incrementaron en forma significativa, (5,3 ±0,9 vs 11.8 ±0,09, $p< 0.001$), (3,0 ± 0,3 vs 4.0 ±0,1, $p< 0.01$). Conclusiones: La exposición pre y postnatal al BPA modifica la actividad del eje

reproductor durante la maduración sexual en la rata hembra. Los resultados obtenidos sugieren que BPA ejercería su efecto estrogénico actuando sobre los mecansimos de feed back. Por otra parte, el efecto estrogénico del DE se manifestó en animales peripúberes a través del incremento en el peso de útero y gonadas.

POS 11-31

Influencia del día del ciclo estral en la respuesta de las células de adenohipófisis de rata tratadas con timulina y GnRH. Claudia C. Ortega, Naham Ortega, Patricia Rosas, Lab. de Neuroinmuno-endocrinología, UIBR, FES-Zaragoza, UNAM, México DF, México.

Estudios previos de nuestro laboratorio muestran que la liberación de FSH y LH en respuesta a la timulina en presencia o no de GnRH, es diferente si las células adenohipofisarias provienen de ratas sacrificadas en cada uno de los días del ciclo estral (D1,D2,P,E) e incubadas durante tiempos cortos (2 h), lo que indica que esta respuesta depende del ambiente hormonal del donador. Por lo anterior se decidió analizar si estas diferencias en los efectos de la timulina y GnRH a lo largo del ciclo estral de la rata se mantienen después de un período prolongado de preincubación. Se utilizaron células de adenohipófisis obtenidas de ratas en D1,D2,P o E y preincubadas por 48 h. Posteriormente se realizó un cambio de medio y se incubaron por 3 h con timulina (100 ng/ml), GnRH (10^{-9}M), GnRH+timulina y sin tratamiento. En el medio se evaluaron las concentraciones de FSH y LH (ng/ml) por RIA. Los datos se expresan como media±e.e.m. de 4 experimentos por triplicado y una $p<0.05$. Los resultados mostraron que FSH presentó una secreción basal mayor en P que en D1 (87±2 vs 58±6). La respuesta al estímulo de GnRH fue mayor en D2 y E respecto a D1 (99±3, 103±6 vs 62±7). La adición de timulina estimuló la secreción basal en D2 (106±4 vs 64±7) y en el mismo día potenció la acción de GnRH (117±4 vs 99±3). Para LH se observó un incremento en la secreción basal en P y E respecto a D1 (75±9, 80±15 vs 24±2), mientras que timulina la estimuló en D1 (44±4 vs 24±2). Con GnRH no se observaron cambios significativos y el agregado de GnRH+timulina mostró una tendencia a incrementar en D2 y P comparado con D1 (58±6, 91±14 vs 6±0.7,NS). Los resultados indican que las células de adenohipófisis en cultivos prolongados mantienen condiciones que les permiten responder de manera diferencial a timulina y GnRH dependiendo del día del ciclo estral del donador. Apoyado por DGAPA-PAPIIT clave IN228005.

POS 11-32

Efeito das neurotoxinas da cianobactéria *Microcystis aeruginosa* sobre o comportamento agressivo maternal de ratas. Rafael Juliano Kosloski, Jonatha Edson de Paula Lima, Rafaela Maria Moresco, Claudia Faccini dos Reis, Charles Francisco Ferreira, Maristela Jorge Padoin. Laboratório de Neurociências, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS), UNIOESTE e FAG, Brasil.

Em reservatórios utilizados para abastecimento público, a ocorrência de "blooms" (florações) de algas é muito freqüente e tem prejudicado a utilização da água. Em função da ampla ocorrência de floração de *Microcystis aeruginosa* em todo o Brasil, existe a necessidade de se avaliar os efeitos dessas através de bioensaios. As algas eram coletadas e leofilizadas. Os grupos de animais foram divididos em: Salina (injeção ip de 0,9% de salina) e grupo experimental (injeção de 165 mg/kg de extrato algáceo). As fêmeas recebiam uma injeção ip de salina ou extrato e eram avaliadas quanto ao comportamento maternal após 15 min. As análises do comportamento eram registradas sempre no sétimo dia pós-parto. A fêmea era recolocada em sua caixa com a ninhada e em seguida era colocado um macho intruso, de peso menor que a fêmea, e permaneciam em filmagem por 10 min. Foram avaliados latência e freqüência dos comportamentos: 1-cheirar o intruso, 2-interação com o ninho, 3-ataque lateral, 4-ataque frontal, 5-postura agressiva, 6-morder, 7-boxear. O resultados mostraram diferença significante($p<0,05$) na latência dos comportamentos, entre o grupo salina: 3-(259±54,2), e 4-(344,7±70) e 6-(400,8±59) e o grupo 165 mg/kg: 3-(600±0), 4-(550±49) e 6-(600±0). E na freqüência do comportamento 3 no grupo salina (2,1±0,5), no grupo 165 mg/kg (0,2±0,1) e no grupo 300 mg/kg, no comportamento 2 houve diferença significante entre o grupo salina (6,6±1) e o grupo 165 mg/kg (1,6±0,5). A avaliação mostrou que as cianobactérias analisadas, nessa dose, geram um comportamento letárgico na fêmea, gerando uma diminuição geral de seus comportamentos, o que pode ser muitas vezes prejudicial tanto a fêmea quanto a sua ninhada, pois os mesmos se encontram expostos ao perigo.

POS 11-33

El nervio ovárico superior (NOS) modula de manera asimétrica la secreción de esteroides en la rata con síndrome del ovario poliquístico (SOPQ). Leticia Morales, Gabriela Rosas, Rosa Linares, Roberto Domínguez. Unidad de Investigación en Biología de la Reproducción, Laboratorio de Fisiología Reproductiva. FES Zaragoza. UNAM. México

Se ha postulado que el SOPQ, inducido por la administración de valerato de estradiol (VE), es el resultado de la hiperactividad de las fibras simpáticas que arriban al ovario vía el NOS. En este estudio se analiza si existe asimetría en la respuesta esteroidogénica frente a la denervación producida por la sección del NOS. Para ello a ratas de 24 días de edad, a las cuales se les indujo el SOPQ por la inyección de 2 mg de VE a los 10 días de edad, se les seccionó el NOS izquierdo (SNOI), derecho (SNOD) o ambos (SBNO). Los efectos sobre la concentración de esteroides fueron analizados a los 90 días de edad y se compararon con ratas inyectadas con el VE. Los resultados obtenidos se muestran en el siguiente cuadro:

Grupo	Progesterona	Testosterona	Estradiol

	(ng/ml)	(pg/ml)	(pg/ml)
VE	13.9 ± 2.4	54.5 ± 5.7	36.7 ± 5.5
VE SNOI	16.6 ± 1.9	17.8 ± 2.3 **a**	15.9 ± 1.2 **a**
VE SNOD	5.2 ± 0.6 **a, b**	20.8 ± 4.4 **a**	18.1 ± 1.9 **a**
VE SBNO	6.6 ± 0.9 **a, b**	27.8 ± 4.6 **a**	18.7 ± 1.6 **a**

a $p < 0.05$ *vs*. VE; **b** $p < 0.05$ *vs*. VE SNOI; (ANDEVA seguida por Tukey). Los resultados muestran que en el animal con SOPQ la información nerviosa que llega por el NOS regula de manera estimulante la secreción hormonal por parte del ovario, que en el caso de la progesterona es asimétrica. Apoyado por el proyecto PAPIIT IN200505.

POS 11-34

En el animal con ovariectomía unilateral (ULO), el Nervio Ovárico Superior (NOS) regula de manera asimétrica la secreción de progesterona (P_4) y 17 β-estradiol (E_2). Angélica Flores, Cristina Montiel, Fernando Daniel Mendoza, Alma Iris Gallegos, María Esther Cruz, Roberto Domínguez, UIBR FES Zaragoza UNAM. México D. F.

El NOS participa en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la secreción de hormonas ováricas. En este estudio se analiza los efectos de la sección del NOS ipsilateral al ovario extirpado realizada a las 13.00 h del diestro 1 (D1), diestro 2 (D2) o proestro (P), sacrificados a las 14.00, sobre la concentración de P_4 y E_2. En el D1, el ovario derecho secreta más P_4 que el ovario izquierdo (78.1±11.6 vs. 39.2±3.1; $p<0.05$), y la sección del NOS izquierdo resulta en una menor secreción de P_4 por el ovario derecho (40.1±7.5 vs. 78.1±11.6, $p<0.05$). La sección del NOS derecho en el D2 resultó en una mayor secreción de P_4 por el ovario izquierdo (70.6±8.9 vs. 27.6±3.7, $p<0.05$). La secreción de E_2 fue significativamente mayor en las ratas con ULO y sección del NOS contralateral al ovario *in situ* (derecho 54.7±7.1 vs. 25.7±4.2; izquierdo 63.8±5.6 vs. 36.8±4.2, $p<0.05$). En el D2, la sección del NOS derecho resultó en un aumento de la secreción de E_2 por el ovario izquierdo (109.4±10.5 vs. 35.5±1.3, $p<0.05$). En el P la secreción de E_2 por el ovario derecho fue mayor que la del izquierdo (120.4±15.5 vs.71.1±10.9, $p<0.05$) y la sección del NOS izquierdo resultó en una menor secreción de E_2 por el ovario derecho (64.0±15.5 vs. 120.4±15.5, $p<0.05$). Los resultados de este estudio indican que los ovarios derecho e izquierdo son influidos de manera diferencial por la falta de información que transcurre por el NOS contralateral y que dicha influencia varía durante el ciclo estral. Trabajo apoyado por DGAPA-PAPIIT 200405-3.

POS 11-35

Efectos asimétricos de la sección unilateral del nervio ovárico superior (NOS) sobre la ovulación en ratas con adrenalectomía unilateral (Adx). Roberto Domínguez, Jaqueline Velasco, Angélica Flores, María Esther Cruz. UIBR, FES Zaragoza UNAM, México D.F.

Al igual que las adrenales, el NOS participa en los mecanismos neuroendócrinos que regulan la ovulación. En este estudio se analizaron los efectos de la sección unilateral del NOS antes o después de extirpar una adrenal, sobre la ovulación espontánea. Los animal fueron tratados a las 13.00 h del proestro y sacrificados en la mañana del día siguiente. La Adx resultó en el bloqueo parcial de la ovulación (6/20 vs. 10/10, $p<0.05$). La tasa de ovulación en animales con sección del NOS derecho en ratas con Adx izquierda (13/20 vs. 2/10) o derecha (13/20 vs. 4/10) fue significativamente mayor que en los animales con Adx ($p<0.05$ prueba de chi cuadrado). Estos cambios no se observaron cuando a los animales con Adx se les seccionó el NOS izquierdo (Adx izquierda 5/20 vs. 2/10; Adx derecha 5/20 vs. 4/10, n.s.). Los resultados indican que los efectos de la adrenalectomía unilateral sobre la ovulación implicarían una hiperactividad del NOS derecho, ya que su sección recupera la tasa de animales ovulantes de manera significativa, mientras que dicha hiperactividad no se presentaría en el NOS izquierdo. La conexión entre las adrenales y los NOS podría ocurrir a nivel del ganglio celiaco-mesentérico superior, desde donde se envía información nerviosa hacia los ovarios y las adrenales. Trabajo apoyado por DGAPA-PAPIIT 200405-3.

POS 11-36

EFFECTS OF MATERNAL FOOD RESTRICTION ON THE THERMOREGULATION OF THE OFF-SPRING. Luz J[1], Coelho Ct[1], Guimarães Pb[1], Goto Em[2], Silva Jr JA[2]. [1] Physiology Department, [2] Pathology Departmet, Universidade Federal de São Paulo, Brazil.

Food restriction imposed during pregnancy usually leads to many alterations in the development of the conceptus. Previous study from our laboratory has shown that maternal food restriction (MFR) delayed thermoregulation of the newborns. Uncoupling protein 1 (UCP1) is the responsible for non-shivering thermogenesis in the neonate and belongs to a family of UCPs, including UCP2 and UCP3. The aim of this study was to evaluate the effects of MFR on the UCP1, UCP2 and UCP3 mRNA expression in brown adipose tissue (BAT) of the neonates. Female Wistar EPM-1 rats received food ad libitum during pregnancy period (C) and food-restricted group (R) received 50% of the amount ingested by C group. Fifteen hours after delivery newborns were sacrificed by decapitation and their carcasses were used for body composition determination. BAT were collected and kept at -80°C for UCPs mRNA determination by real time PCR. Offspring from R dams showed reduction on body weight and fat content and increased on water percentage. No alterations on glycaemia and protein content were verified. MFR led to an increase for UCP1, UCP2 and UCP3 mRNA expression . These results suggest an increase in heat losses by the increase in the ratio body surface/volume and impairment of thermal insulation that could be partially compensate by increased UCP expression. Thus, MFR delayed thermoregulation probably due to an

increase in heat losses and not by impairment on thermogenesis. Finantial Support: FAPESP and CNPq.

POS 12
Roles del óxido nítrico. Sistemas anti-oxidantes
Nitric oxide roles-Antioxidative Systems

POS 12-01

Exercício em diferentes intensidades e estresse oxidativo no cérebro de ratos. Michel Barbosa de Araújo, Fabrício Azevedo Voltarelli, Ricardo Vinicius Ledesma Contarteze, Fúlvia de Barros Manchado, Eliane Stevanato e Maria Alice Rostom de Mello. Departamento de Educação Física, Instituto de Biociências, Unesp, Rio Claro, SP, Brasil.

São raros os estudos que associam variáveis metabólicas a intensidade de esforço em ratos. O presente estudo foi delineado para investigar os efeitos do exercício de corrida em esteira rolante em duas intensidades distintas sobre peroxidação lipídica (quantidade de substancias que reagem ao ácido tiobárbiturico [TBARs]), produção de enzimas antioxidantes (atividade da enzima catalase [CAT]) e de atividade celular (enzima fosfatase alcalina [FA]) no cérebro de ratos. Ratos adultos (90 dias), da linhagem Wistar, tiveram a Máxima Fase Estável de lactato (MFEL) determinada durante exercício de corrida em esteira rolante. Para tanto, cada animal foi submetido a testes de exercício por 25 minutos, em velocidades entre 10 a 25m/min, com coletas de sangue em repouso e a cada 5 minutos de exercício para dosagem de lactato. Em seguida, os ratos foram separados em 3 grupos: sedentário, treinado MFEL (40 minutos/dia, 5 dias por semana, na velocidade da MFEL) e treinado Supra-MFEL (40 minutos/dia, 5 dias por semana, em velocidade 5 % acima da MFEL), por 8 semanas. A analise estatística foi efetuada pela aplicação de ANOVA One-Way, pré fixando-se o nível de significância em 5%. A MFEL foi obtida na velocidade 20m/min, à concentração sangüínea de lactato de 4,0$\pm$0,3mmol/L. Não houve diferença entre os grupos com relação a TBARs (nmol MDA/mg Proteína): treinado MFEL = 13,60$\pm$4,08, treinado Supra-MFEL = 15,50$\pm$3,25 e sedentários = 16,11$\pm$2,69. A atividade da CAT (µmol/min. mg proteína) foi maior no grupo treinado supra-MFEL = (0,94$\pm$2,0) que nos demais (treinado MFEL = 0,27$\pm$0,08 e sedentários = 0,40$\pm$0,27) . O mesmo ocorreu com FA (U/g): MFEL = 68,82$\pm$13,18, treinado Supra-MFEL = 85,76$\pm$9,92 e sedentários = 59,47$\pm$9,66. Esses resultados sugerem que o treinamento em intensidade acima da MFEL ativa os mecanismos antioxidantes cerebrais dos animais.

***POS* 12-02**

Alterações renais em ratos wistar obesos (modelo MSG) com 9 meses de idade. Edmara Ap. Baroni; Célia Regina de Godoy Gomes; Rosana Torrezan. DCM, Universidade Estadual de Maringá, Maringá- Pr - Brasil.

A obesidade induzida pelo tratamento neonatal com glutamato monosódico (MSG), é um dos modelos utilizados para estudar as alterações provocadas por essa síndrome, considerada um fator de risco para o desenvolvimento de muitas doenças, inclusive as renais. Este trabalho teve como objetivo avaliar a morfofisiologia renal de ratos Wistar obesos. Ratos Wistar neonatos foram submetidos, a injeções subcutâneas de MSG (4g/kg de peso corporal): G-MSG-9 (n=9), e injeção de salina: G-C (n=6). Após 9 meses, os animais foram sacrificados para retiradas dos rins, que foram fixados, incluídos em parafina e corados pelo Tricômico de Masson. A dosagens no sangue e urina foram feitas com " kits" do laboratório Doles reagentes. Observamos que os animais dos grupos G-C e G-MSG-9, apresentaram diferença significativa no peso da gordura retroperitonial (G-C= 6,45 ± 2,3; G-MSG-9= 13,9 ± 3,3 g p=0,00202), no índice de Lee (G-C= 255 ± 5; G-MSG-9 = 264 ± 7,5 p= 0,03861), no volume urinário (G-C= 22,8 ± 4; G-MSG-9= 7,4 ± 3,5 mL/24 h p= 0,0000073), na ingesta hídrica (G-C =32,8 ± 3,2; G-MSG- 9 = 5,25 ± 4,2 mL p=0,000000014), na creatinina urinária (G-C =30.4 ± 5.4; G-MSG- 9 = 3.8 ± 2.9 mg/24 h p= 0,000000101), na creatinina plasmática (G-C= 6.0 ± 0.25; G-MSG-9 = 7.2 ± 0.35 mg/dL p= 0,00858). Não observamos proteinúria significativa nos animais com obesidade induzida pelo MSG (G-C=25.8 ±7.27; G-MSG- 9= 22.7 ± 4.1 mg/dL) e a análise histológica não evidenciou presença de esclerose glomerular e alterações tubulointersticiais (infiltrado inflamatório, fibrose e cilindros intratulbulares). Concluindo, a redução da creatinina urinária associada ao aumento da plasmática e a diminuição do volume urinário, sugere que ratos obesos MSG, com 9 meses de idade, apresentam alteração na função renal pela redução da taxa de filtração glomerular. Esses animais não apresentaram esclerose glomerular, alterações tubulointersticiais e proteinúria significativa.

POS 12-03

Aislamiento y caraterización de un compuesto con actividad antioxidante aislado de la *encylcia michuacana.* Bautista Ramírez María Esther[1], Hernández Carlos Beatriz[2], Chávez Infante Verónica[1], Gómez y Gómez Yolanda[1], Joseph-Nathan Pedro[3].Depto. de Bioprocesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología. Instituto Politécnico Nacional[1], Universidad del MAR[2], Centro de Investigación y Estudios Avanzados[3].

La *Encylcia michuacana* pertenece a la familia Orquidaceae y a pesar de ser usada en la medicina tradicional

del Estado de Oaxaca como agente hipoglucemiante no tiene ningún tipo de estudio químico o biológico. Los tubérculos secos y molidos se sometieron a extracción con acetato de etilo a temperatura ambiente. El extracto de acetato de etilo se sometió a cromatografía en columna (CC) usando mezclas de hexanos-acetato de etilo. Las fracciones eluidas con mezcla 1:1 fueron recromatografiadas en CC y se obtuvo el 1-(3´-hidroxi-5´-metoxifenil)-2-(4´´-hidroxi-5´´-methoxyphenyl) etano, como un semisólido rojo y fue identificado mediante análisis de sus espectros de RMN ^{1}H Y ^{13}C y de masas (EIMS) al cual se evaluó su capacidad antioxidante. Esta actividad fue determinada usando el (2-2-Difenil-1-picrilhidrazilo) (DPPH).Las concentraciones probadas del compuesto fueron (0.014-463.00 μM), la reducción del DPPH fue seguida determinando la disminución de absorbancia a 517 nm. El compuesto probado sí presentó actividad antioxidante (CI_{50} =0.18 μM), comparada con el ácido caféico (CI_{50}=0.13 μM) que presenta una estructura similar con el compuesto aislado como es la presencia de grupos hidroxilo electrodonadores. Este tipo de estudios es importante realizarlos porque pueden ser las bases para explicar algunas de sus propiedades biológicas de estos compuestos especialmente las relacionadas con los procesos oxidativos.

POS 12-04

Acute lung injury in rats induced by oxidative stress modulates the glycogen metabolism in differents tissue. Freitas APRB, Rodrigues-Machado MG, Borges EL. Centro Universitário de Belo Horizonte/UNI-BH, Departamento de Fisiologia e Biofísica, ICB, UFMG, Brazil.

The glycogen metabolism can be changed in many diseases. The pathophysiology of the acute lung disease (ALI) may differ according to the local of insult, pulmonary (ALI-P) and extrapulmonary (ALI-EX). Objective: To investigate the changes in the glycogen content in differents tissues in paraquat-induced acute lung injury, an oxidative stress model. Methods: Male Wistar rats weighing 250-300g were used. ALI-P and ALI-EX were induced by injection of paraquat solution into trachea (0.5 mg/Kg) and intraperitoneally (20.0 mg/Kg), 24 h prior to the tissue collect. The control group (CTRL) received saline in the same volume injected in ALI animals. Glycogen of frozen tissue (1g) was extracted and measured by anthrone reagent method. Results: The diaphragm (31.74.±2.96 mg/g tissue) and the gastrocnemius (26.04±2.35 mg/g tissue) content of glycogen in ALI-EX decreased compared with CTRL (72.56±14.04 and 34.86±2.87 mg/g tissue, respectively) ($p < 0.01$ and $p<0.05$). The heart (208.10±22.19 mg/g tissue) and the kidney (80.14±10.19 mg/g tissue) content of glycogen in ALI-EX incresead compared with CTRL (35.27±4.33 and 48.58±4.34 mg/g tissue) ($p<0.001$ and $p<0.05$), respectively. The diaphragm (46.39±3.68 mg/g tissue) content of glycogen decreased compared with CTRL (60.98±3.25mg/g tissue) ($p< 0.05$) in ALI-P, but in gastrocnemius, heart and kidney showed no difference compared with CTRL.Conclusion:These results demonstrate that the glycogen metabolism is changed in different tissues according to the local of the insult

POS 12-05

Modulación de la actividad de receptores $GABA_C$ por ácido ascórbico. Cecilia I. Calero, Daniel J. Calvo. INGEBI-CONICET, DFBMC FCEyN UBA.

Diferentes pasos del metabolismo celular implican reacciones de óxido-reducción (redox) y/o generación de especies reactivas de oxígeno (EROs). Estos procesos pueden cumplir funciones específicas en mecanismos de señalización neuronal y glial involucrados en fenómenos tales como sinaptogénesis, desarrollo neuronal, LTP y respuestas adaptativas al trauma o estados fisiopatológicos. Las reacciones redox y la generación de EROs se encuentran bajo un estricto control regulatorio ya que sus desbalances desencadenan procesos perjudiciales para la fisiología celular normal. Particularmente, la actividad de diversos receptores sinápticos (por ej. NMDA, GABAa, 5-HT, ACh, DA), es modulada por agentes reductores (ácido ascórbico, DTT, GHS) u oxidantes (DTNB, GSSG, H_2O_2). La actividad de canales iónicos, transportadores neuronales y otras macromoléculas de membrana puede modularse de manera similar. En este trabajo se reportan estudios farmacológicos realizados *in vitro* analizando la participación de mecanismos redox en la modulación de la actividad de receptores ionotrópicos de $GABA_C$ (homoméricos GABArho1 de retina humana). Los receptores se expresaron heterólogamente en ovocitos de ranas (*Xenopus laevis*) y se registraron electrofisiológicamente las respuestas al GABA (corrientes de cloruro) en presencia y ausencia de ácido ascórbico (Asc). Este antioxidante potenció significativamente las respuestas evocadas por GABA de manera dosis-dependiente, en un rango de concentraciones equivalente al observado para sus efectos sobre otros receptores sinápticos y canales iónicos (entre 0.3 y 3.0 mM). El grado de potenciación efectiva alcanzada luego del tratamiento con Asc dependió de la concentración de GABA, siendo mucho mayor a concentraciones bajas. El análisis de curvas dosis-respuesta reveló un desplazamiento de la concentración efectiva de GABA hacia la izquierda en presencia de Asc compatible con un aumento de la afinidad aparente del receptor por el GABA.

POS 12-06

Sistema del óxido nítrico cardíaco y vascular: activación mediada por el péptido natriurético C. Caniffi, Carolina; Elesgaray, Rosana; Finella, Sebastián; Burger, Ana; Visintini, Florencia; Balaszczuk, Ana; Arranz, Cristina; Costa, Angeles, Cát. de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, IQUIMEFA-CONICET, Argentina.

Previamente mostramos que los efectos diuréticos y natriuréticos del ANP están mediados por la activación de la óxido nítrico sintasa (NOS). El péptido natriurético C (CNP) se expresa en sistema nervioso, endotelio

vascular y corazón, y produce veno y arteriodilatación e hipotensión. Objetivo: estudiar los cambios en la actividad de NOS inducidos por CNP, *in vivo* e *in vitro*, tipo de receptor y mecanismos de señalización involucrados. Se midieron nitritos y nitratos urinarios (NOx, nmol/min.100 g) luego de infundir CNP (1µg/kg.min;60 min) en ratas Wistar. Se determinó la actividad de NOS (pmol L-[$U^{14}C$]- citrulina/g tejido.min), con L-[$U^{14}C$]-arginina luego del agregado de CNP (1uM), cANP(4-23) (1uM, agonista específico de NPR-C) y toxina Pertussis (800ng/ml, TxP, inhibidor de Gi) en aorta, aurícula y ventrículo. Resultados: El CNP incrementó NOx (5.7±0.5 vs 1.6±0.2, p<0.01).

	Basal	CNP	cANP	TxP	CNP+TxP	CNP+cANP
Aorta	217.3±4.4	266.8±1.3*	308.4±3.1*#	209.6±3.5	261.1±1.3*	366.1±3.8*#+
Aurícula	233.6±3.6	284.1±1.1*	358.2±1.7*#	249.1±4.7	234.56±5.6#	356.3±3.2*#
Ventrículo	175.3±2.8	230.1±3.8*	242.2±4.9*	170.1±3.0	225.3±5.6*	297.2±6.0*#+

* p<0.01 vs basal, # p<0.01 vs CNP, + p<0.01 vs cANP. El CNP aumentó la actividad de NOS en todos los tejidos. Sólo en aurícula, TxP bloquea el efecto del CNP sobre la actividad de NOS. En aorta y ventrículo la inhibición de Gi no modificó la activación de NOS por CNP y en estos tejidos la adición simultánea de ambos péptidos indujo un aumento en la actividad de NOS mayor al del cANP, indicando que la activación de NOS vía CNP involucraría a NPR-A y/o B. En aurícula, la activación de NOS inducida por CNP involucraría su interacción con NPR-C asociado a Gi.

POS 12-07

Metabolic effects of *p*-coumaric acid in the perfused rat liver. Jorgete Constantin, Leonardo C. N. Lima, Gisele D. Buss, Emy L. Ishii-Iwamoto, Clairce Salgueiro-Pagadigorria, Jurandir F. Comar, Adelar Bracht. Laboratory of Liver Metabolism, University of Maringá. Brazil. jconstantin@uem.br.

The *p*-coumaric acid, a phenolic acid, occurs in several plant species and, consequently, in many foods and beverages of vegetable origin. Its antioxidant activity is well documented, but there is also a single report about an inhibitory action on the monocarboxylate carrier, which operates in the plasma and mitochondrial membranes. The latter observation suggests that *p*-coumaric acid could be able to inhibit gluconeogenesis and related parameters. The present investigation was planned to test this hypothesis in the isolated and hemoglobin-free perfused rat liver. Transformation of lactate and alanine into glucose (gluconeogenesis) in the liver was inhibited by *p*-coumaric acid (IC_{50} values of 92.5 and 75.6 µM, respectively). Transformation of fructose into glucose was inhibited to a considerably lower degree (maximally 28%). The oxygen uptake increase accompanying gluconeogenesis from lactate was also inhibited. Pyruvate carboxylation in isolated intact mitochondria was inhibited (IC_{50} = 160.1 µM); no such effect was observed in freeze-thawing disrupted mitochondria. Glucose 6-phosphatase and fructose 1,6-bisphosphatase were not inhibit. In isolated intact mitochondria *p*-coumaric acid inhibited respiration dependent on pyruvate oxidation but was ineffective on respiration driven by succinate and β-hydroxybutyrate. It can be concluded that inhibition of pyruvate transport into the mitochondria is the most prominent primary effect of *p*-coumaric acid and also the main cause for gluconeogenesis inhibition. The existence of additional actions of *p*-coumaric acid, such as enzyme inhibitions and interference with regulatory mechanisms, cannot be excluded.

POS 12-08

Papel de Ca^{2+}-calmodulina (CaM) en la formación de poros de transición de permeabilidad mitocondrial (PTPM) inducida por *tert*-butilhidroperóxido: Su rol en la generación de estrés oxidativo de origen mitocondrial. Pérez Leonardo M., Ochoa Justina E., Sánchez Pozzi Enrique J., Roma Marcelo G. Instituto de Fisiología Experimental (IFISE-CONICET), Fac. de Cs. Bioquímicas y Farmacéuticas, U.N.R., Argentina.

El estrés oxidativo induce apertura de PTPM, con consiguiente escape de electrones y generación de radicales libres en citosol; esto precede la muerte celular por apoptosis o necrosis, dependiendo de la caída de ATP producida. Dado que este fenómeno requiere elevación de Ca^{2+} mitocondrial y que la mitocondria contiene CaM, comprobamos si esta última media el papel facultativo de Ca^{2+} en la generación de PTPM por estrés oxidativo. El tratamiento de mitocondrias aisladas de hepatocitos de rata con el agente pro-oxidante *tert*-butilhidroperóxido (*t*BOOH, 500 µM) generó apertura de PTPM, evaluada por determinación del *swelling* mitocondrial (% de caída de OD a 540 nm); este fenómeno fue totalmente bloqueado por ciclosporina A (CsA, 5 µM), un inhibidor de la formación de PTPM. Los antagonistas de CaM W7 (100 µM) y trifluorperazina (TFP, 10 µM) también previnieron totalmente la apertura de PTPM inducida por *t*BOOH. Un patrón similar de protección se obtuvo cuando PTPM fue inducido por el agregado directo de Ca^{2+} (100 µM) a la fracción mitocondrial. Se evaluó el impacto de tales manipulaciones sobre la lipoperoxidación inducida por *t*BOOH a hepatocitos aislados de rata. *t*BOOH incrementó la lipoperoxidación (+ 723%, p<0.001) y este efecto fue parcialmente inhibido por CsA (~ -30%, p<0.05); esto demuestra que parte del estrés oxidativo generado por *t*BOOH es de origen mitocondrial, vía formación de PTPM. La inhibición de CaM con W7 o TFP redujo la lipoperoxidación en similar magnitud. Concluimos que las elevaciones de Ca^{2+} mitocondrial provocadas por estrés oxidativo inducen la apertura de PTPM vía la formación del complejo CaM, provocando exacerbación del daño lipoperoxidativo de origen mitocondrial.

POS 12-09

Hypermethioninemia induces oxidative stress in liver of rats. Francieli M. Stefanello, Carolina D. Pederzolli, Andréa G. Kurek, Carlos S. Dutra-Filho and Angela T.S. Wyse. Departamento de Bioquímica, UFRGS, Porto Alegre, RS.

Tissue accumulation of high amounts of methionine has been encountered in various inherited disorders such as methionine adenosyltransferase deficiency. Affected patients can present neurological and hepatic damage. Considering that very little is known about the mechanisms underlying the liver damage present in this disorder, and that oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of hepatic injury, the objective of the present study was to investigate the effect of chronic administration of methionine on various parameters of oxidative stress, namely chemiluminescence, thiobarbituric acid-reactive substances (TBA-RS), total radical-antioxidant potential (TRAP), total antioxidant reactivity (TAR), catalase and total thiol content in liver of hypermethioninemic rats. Animals were treated daily with twice subcutaneous injection of methionine (1.34 - 2.68 μmol/g of body weight) or saline (control) from the 6th to the 28th day of life and were sacrificed 12 h later. Our results showed that methionine significantly increased chemiluminescence, decreased TRAP and catalase activity. In contrast, TAR and thiol content were not altered by hypermethioninemia. These findings suggest that oxidative stress induction caused by methionine may be, at least in part, one of the mechanisms related to the liver damage observed in hypermethioninemia. Supported by: CNPq, PRONEX II, PROPESQ/UFRGS.

POS 12-10

β- adaptina: molécula clave en la función del receptor pepenador (scavenger) durante el estrés oxidativo celular. Natalia Manzano-León y Jaime Mas-Oliva. Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

De acuerdo a los antecedentes de nuestro laboratorio, al estudiar el efecto del estrés oxidativo severo producido por ter-butil-hidroperóxido (TBH) en la internalización de LDL-Ac a través del receptor "scavenger" (RS) (1) y en los que se ha observado que la unión del ligando no se modifica pero la capacidad de internalización se pierde, se decidió evaluar los posibles cambios en la expresión de una serie de proteínas involucradas en la endocitosis mediada por el RS durante el estrés oxidativo provocado fisiológicamente por el péptido β-amiloide (Aβ) en células de microglia (2). Una de estas proteínas, la β-adaptina, clave en la formación de vesículas cubiertas de clatrina, disminuye de forma importante de acuerdo a la dosis del $A\beta_{25-35}$ internalizada. Se ha encontrado además un aumento en la expresión de la α- adaptina, de CALM y del RSB bajo este mismo tratamiento. Por otra parte, mediante ensayos de inmunoprecipitación ha sido definido que la proteína β-adaptina forma parte de un complejo preformado con la α-adaptina y el RSA, pero una vez en presencia del ligando, la β-adaptina interacciona también con el RSB. En este trabajo se reporta por primera vez la correlación entre el inicio de un proceso apoptótico y una disminución en la β-adaptina, una de las proteínas clave en la formación de las vesículas cubiertas de clatrina, en respuesta al estrés oxidativo producido por el péptido $A\beta_{25-35}$. El hecho de que los niveles de expresión de la proteína β-adaptina disminuyan puede ser una de las razones por las que las células de microglia en contacto con el $A\beta_{25-35}$ sean incapaces de endocitarlo cuando este se encuentra en altas concentraciones en el espacio extracelular. (1) Aguilar-Gaytán y Mas-Oliva (2003) BBRC 305: 510-517. (2) Manzano-León y Mas-Oliva (2006) Gac. Med. Méx. 142: 229-238.

POS 12-11

Modulação do sistema antioxidante de *Corydora paleatus* (CALLICHTHYIDAE) pelo ácido lipóico. Tarsila Moraes, Josencler Ribas Ferreira, Daiane Acosta, Luciane Cougo dos Santos, Lilian Lund Amado, Thiago Lorente Carvalho, Márcia Longaray Garcia, José Maria Monserrat, PPG-Ciências Fisiológicas-Fisiologia Animal Comparada, Depto de Ciências Fisiológicas, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Brasil.

O ácido lipóico é um composto encontrado naturalmente na mitocondria como coenzima no ciclo de Krebs e vem sendo descrito na bibliografia como agente terapeutico para doenças neurodegenerativas e diabetes. Considerando as propriedades antioxidantes deste composto, o objetivo foi avaliar seu efeito no sistema de defesa antioxidante tendo como modelo animal o peixe *C. paleatus*. Foi preparada uma ração, a partir da comercial (Tetra), na qual foi acrescentado o ácido lipóico (AL). Os 60 animais (2,872±0,477g) foram adquiridos comercialmente, divididos em 8 aquários (4 controles e 4 AL) e mantidos em laboratório sob 20±1°C e fotoperíodo de 12h claro e 12h escuro. O grupo AL foram alimentados com uma ração diária de 1% do peso corporal e com concentração de 70mg de ácido lipóico por um periodo de 4 e 8 semanas. O grupo controle foi alimentado da mesma forma porem sem adição de AL. Após o periodo de tratamento, os animais foram sacrificados e seus cérebro, músculo, brânquias e fígado dissecados. As amostras foram homogenizadas e centrifugadas. O sobrenadante foi utilizado para as dosagens bioquimicas. Os resultados mostraram que a concentração de espécies ativas de oxigênio (EAO) diminuiram em amostras de cérebro nos animais alimentados com ácido lipóico ($p<0,05$), evidenciando a eficácia antioxidante deste composto também em peixes. A atividade da enzima glutamato cisteína ligase (GCL) apresentou aumento significativo ($p<0.05$) no cérebro e fígado, indicando que o AL aumenta a competencia antioxidante e de detoxificação contra vários compostos que precissem de glutationa para realizar reaç;ões de fase II.

POS 12-12

Descending facilitatory mechanisms of nociception use serotoninergic receptors on spinal cord. Silveira, J.W.S.[1]; Del Bel, E.A. [2]; Prado, W.A[1]. [1]Department of Pharmacology, School of Medicine, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brasil. [2]Department of Physiology, School of Den-

tistry, University of Sao Paulo, Sao Paulo, Brazil.
Most studies on the descending control of pain indicate an inhibitory spinal nociceptive processing. Recent findings have pointed to the existence of parallel descending facilitatory mechanisms. Pain modulatory mechanisms are very complex due to multiple spinal pools of neurotransmitters derived from different neuronal sources, and to the fact that individual transmitters may exert multiple actions in the dorsal horn. Preliminary data in our laboratory demonstrate that serotonergic mechanisms are involved in descending facilitatory control of nociception. Thereafter, the present study focuses on such serotonergic spinal mediation in a rat model of incisional pain. Antagonists were injected intrathecally before paw incision. Animals were sacrificed two hours later and the expression of C-fos protein (Fos-IR) in the spinal cord was evaluated immunohistochemically. Increase in Fos-IR evoked by the incision was inhibited bilaterally by Methiotepin in laminae I/II, V, ventral horn, and in lamina X. Ketanserin inhibited in contralateral lamina V, lamina X and in the ipsilateral ventral horn. Similarly, LY 278,584 inhibited Fos-IR in the contralateral laminae I/II. These results suggest that descending facilitatory mechanisms of nociception use 5-HT_{1a} serotoninergic receptors in spinal interneurons. Descending facilitatory inputs are mediated by multiple serotoninergic receptors subtypes in contralateral lamina V. Moreover, descending facilitatory effects on the ventral horn are problably mediated by 5-HT_3, 5-HT_{2a} and 5-HT_7 serotoninergic receptors.

POS 12-13

Óxido Nítrico y Factor de Crecimiento Endotelial Vascular en las primeras etapas del proceso de regeneración. Maria Teresa Ronco, Daniel Francés, Luján Alvarez, Ariel Quiroga, Juan Monti, Juan Pablo Parody, Cristina Carrillo, Cristina Carnovale. . IFISE-CONICET, Fac. Cs. Bioq. y Farm. (UNR), Argentina.

Posterior a una hepatectomía parcial (HP) existe un aumento de la enzima Óxido Nítrico sintetasa inducible (iNOS) y liberación de Óxido Nítrico (NO). Por otro lado, NO podría estar involucrado en las vías de señalización del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF).En este trabajo se analizó el rol de NO en la expresión de VEGF en las primeras etapas del proceso de regeneración hepática. Ratas Wistar machos adultas sham (Sh, cirugía simulada) y sometidas a HP del 65% fueron divididas en tres grupos: Control (tratadas con vehículo), tratadas con nitroprusiato de sodio 0,25 mg/kg PC (SNP) y tratadas con aminoguanidina 100 mg/kg PC (AG). Los animales fueron sacrificados a las 5, 24 y 72 hs post-cirugía. Se determinó el contenido de NO por la técnica de espectroscopia de resonancia paramagnética electrónica (EPR) observándose los siguientes aumentos: Sh-C: 37,65±10,70; HP-C: 88,13±1,60*; Sh-SNP: 90,35±3,11*, HP-SNP: 120,00±5,37*#; Sh-AG:34,25±2,80; HP-AG: 36,80±3,40#.(*p<0,05 vs Sh-C; #p<0,05 vs HP-C). Por western blot se analizó en lisado total la expresión de VEGF a las 24 y 72 horas post-cirugía. A los tiempos estudiados se observó un aumento en el nivel de VEGF en los animales Sh-C respecto de los HP-C. El tratamiento de los animales hepatectomizados con SNP no produjo diferencias significativas en el contenido de VEGF a las 24 horas post-HP, mientras que si se observó un aumento de la expresión (300%) a las 72 horas post-HP respecto de los animales HP-C. Por otro lado, la inhibición de iNOS por AG disminuyó los niveles de VEGF a las 72 horas post-HP. Estos resultados sugieren que NO regula positivamente la expresión de VEGF en las primeras etapas del proceso de regeneración hepática.

POS 12-14

Terapia Antioxidante na Síndrome Hepatopulmonar (SHP) Experimental. Juliana Tieppo; Rafael Vercelino; Alexandre Simões Dias; Graziella Rodrigues; Jaqueline Picada; Themis Reverbel da Silveira; Cláudio Augusto Marroni; Norma Marroni. PPG-Fisiologia UFRGS / Lab. de Hepatologia Experimental - Fisiologia / HCPA e Estresse Oxidativo - ULBRA / FFFCMPA.

A SHP é caracterizada por disfunção hepática e pela existência de dilatações dos vasos pulmonares, levando a alteração na troca gasosa. Objetivamos avaliar em modelo experimental de SHP através de ligadura de ducto biliar (LDB), a ação do antioxidante Quercetina (Q). Foram utilizados 24 ratos machos Wistar, pesando em média 250g, divididos em 4 grupos (n=6): I-Controle (Co), II-Cirrótico (Ci), III-Co+Q, IV-Ci+Q. Foram realizadas provas de integridade hepática (Aspartato Aminotransferase-AST e Alanina Aminotransferase-ALT), gasometria arterial e ensaio cometa para determinar, respectivamente, disfunção hepática, alteração nas trocas gasosas e atividade genotóxica nos tecidos pulmonar e hepático. Nas provas de integridade hepática observou-se diferença significativa do grupo II-(AST:496,0 ± 29,7*/ALT:141,8 ± 13,7*) em relação aos demais grupos I-(AST:95,7 ± 10,3/ALT:65,78 ± 9,2), III-(AST:66,4 ± 2,4/ALT:38,44 ± 2,7) e IV-(AST:146,9 ± 23,4/ALT:69,1 ± 20,8). Na avaliação da pressão parcial de Oxigênio (PO_2) e saturação da hemoglobina ($Sat.Hb/O_2$) nota-se diferença estatística do grupo II-(PO_2:57,0 ± 6,94*/$Sat.Hb/O_2$:72,4 ± 7,38*) em relação aos grupos I-(PO_2: 87,7 ± 6,84/$Sat.Hb/O_2$: 94,9 ± 0,90), III-(PO_2: 85,7 ± 7,95/$Sat.Hb/O_2$: 93,1 ± 2,25) e IV-(PO_2: 73,5 ± 6,47/$Sat.Hb/O_2$: 86,2 ± 4,67). Na avaliação de danos no DNA por ensaio cometa (Mol. Brain Res. 114:80, 2003) observou-se aumento significativo do índice de dano no tecido hepático do grupo II-(66 ± 3*) em relação ao grupo I-(15 ± 4). Os resultados foram considerados significativos quando p<0,05*-Teste de Student Newman Keuls. Os dados obtidos sugerem que o uso do antioxidante Quercetina na SHP restaura a função hepática e conseqüentemente atenua as alterações pulmonares do modelo estudado. **Apoio Financeiro:** FIPE-HCPA / CAPES / UFRGS

POS 12-15

Rol de la tensión de estiramiento en la liberación de oxido nítrico extraendotelial en arteria mamaria y vena safena. Joo Turoni C, Marañón R, Fernández E, Muntaner J, Proto V, Peral de Bruno M. Dpto. Biomédico, Fac.Medicina INSIBIO-CONCET Tucumán. Centro Modelo de Cardiología.

En el bypass coronario se usan arteria mamaria(AM) y vena safena(VSf). Aunque AM tiene mayor viabilidad, los mecanismos implicados no están dilucidados, postuladose que el oxido nitrico(NO) tendría un rol fundamental. Objetivo: Medir liberación de nitritos en AM y VSf evaluando las NO-sintetasas involucradas. Métodos: De 44 p (61±2 años) con o sin factores de riesgo (FR): HTA, diabetes y/o dislipemia se obtuvieron restos (1-4 anillos, 5mm) de AM y VSf. La presencia de endotelio se determinó por relajación (E+) o no (E-) a acetilcolina 10^{-6}M en baño de órgano aislado. Se doso NO por método de Griess en anillos sin (NT) y con (T) tensión de estiramiento con o sin L-NAME 10^{-3}M (con o sin L-Arginina 10^{-2}M), Angiotensina II (AngII: 10^{-9}-10^{-6}M), dexametasona 10^{-5}M, S-methyl-L-tiocitrulina (SMT: 10^{-6}M). Los resultados se expresaron en pmoles de nitritos/mg tejido. Resultados: Solo 7 p presentaron E+ (AM:-1191±378, VSf: -151±69 mg p< 0,004) sin asociación con los FR (χ^2 =0,234, NS). El NO basal en T fue menor en E- vs E+ en AM(1829±259 vs 3699±65 pmol/mg n=19; p<0,05) y VSf (694±103 vs 1290±216 pmol/mg, n=18; p<0,01). La T aumentó los nitritos en todos los casos, este efecto, mayor en AM E+ que en VSf (p<0,001) se mantuvo aún en E-. La Ang II mostró diferencias entre T y NT en E+ y E-. El L-Name inhibió el NO en AM y VSf con T, efecto que se revirtió por L-Arginina. En AM y VSf T, el SMT, a diferencia de dexametasona, inhibió los nitritos. Conclusiones: Se encontró una disfunción endotelial generalizada. La inhibición del L-Name se explicaría por nitritos de origen extraendotelial. Postulamos una acción de la NOS neuronal (nNOS), que se activaría por la T que podría homologarse en vivo a la tensión que sufriría el vaso injertado en el circuito coronario.

POS 12-16

Effects of cadmium on reactive oxygen species generation and its interference with the antioxidant defense system of the polychaete *Laeonereis acuta* (Nereididae). Juliana Z. Sandrini, Juliane Ventura-Lima, Francesco Regoli, Luis Fernando Marins, José Marìa Monserrat, Departamento de Ciências Fisiológicas, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Brasil, Instituto di Biologia e Genetica, Università Politecnica delle Marche, Italy.

Environmental pollutants, including heavy metals, can exert their toxicity through induction of oxidative stress. So, the objective of this study was to evaluate the effects of chronic cadmium exposure on the reactive oxygen species (ROS) generation in the polychaeta *Laeonereis acuta*. Worms were submitted to two concentrations of cadmium (C_1 = 5 μg/L and C_2 = 100 μg/L) during a test period of 7 days. A control group was kept in saline water (10 ‰ at 20°C and pH 8.0) without cadmium (C_0). Cadmium was significantly ($p<0.05$) accumulated in *L. acuta* at the two concentrations assayed but the formation of ROS was augmented ($p<0.05$) only in C_2 group (4656847.4±1044046.1 fluorescence units) when compared to C_0 (2750833.5±409601.2 fluorescence units). Related to this, activity of glutathione *S*-transferase (GST) was also higher ($p<0.05$) in C_2 (0.056±0.012 U GST/mg protein) than in C_0 (0.039±0.008 U GST/mg protein). Contrary to this, superoxide dismutase (SOD) activity was inhibited ($p<0.05$) by cadmium treatment in C_2 group (10.05±2.20 U SOD/mg protein) than in C_0 (16.77±1.46 U SOD/mg protein). The activities of glutathione peroxidase and catalase were not affected ($p>0.05$) by cadmium treatment. The levels of lipid peroxides remained unchanged ($p>0.05$) after cadmium exposure (53.49±10.58 nmol CHP/g ww, mean of all groups), which may be related to the induction of GST activity by cadmium in C_2 group. This study has demonstrated that cadmium can induce the formation of ROS and can alter the antioxidant defense system of the polychaete *L. acuta*, even though cadmium is not reported to induce oxidative stress directly as others metals like copper.

POS 12-17

Efeito da Inalação Crônica de ROFA no Estresse Oxidativo de Diferentes Regiões do Encéfalo de Ratos. Luís Felipe Campesato[1], Ana Cláudia Zanchi[1], Carina Venturini[1], Helena Barros[2], Cláudia Rhoden[1], Paulo Saldiva[3]. [1] Laboratório de Estresse Oxidativo e Poluição Atmosférica, FFFCMPA, Brazil; [2] Pós-graduação em Ciências Médicas, FFFCMPA. [3] Departamento de Patologia, USP.

Estudos epidemiológicos demonstram uma correlação positiva entre a exposição a metais de transição e doenças neurodegenerativas. Esses metais são os principais componentes do material particulado (MP), presente no ar poluído. Nosso objetivo é verificar se a exposição crônica ao ROFA (rico em metais de transição) promove estresse oxidativo (EO) em diferentes estruturas do encéfalo de ratos, e se esse dano pode ser prevenido pelo uso de N-acetilcisteína (NAC). Foram utilizados ratos Wistar, machos, 45 dias, divididos em 4 grupos (n=4): G1(Controle): soro fisiológico (SF) 1 ml/Kg via intraperitonial (i.p.) e SF (20μl) via inalatória (v.i.); G2 (NAC): NAC 150 mg/Kg/dia via i.p. e SF (20μl) v.i.; G3 (SF/ROFA): SF 1 ml/Kg via i.p. e ROFA (10μg/20μl). G4 (NAC/ROFA): NAC 150 mg/Kg/dia via i.p. e ROFA (10μg/20μl) v.i. Os tratamentos foram realizados durante 30 dias. No trigésimo dia os animais foram sacrificados, o encéfalo retirado e o hipocampo, estriado, córtex e cerebelo separados. O EO foi determinado através do método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). Resultados: no estriado os animais do G3 tiveram aumento de EO, 0,80+-0,30 nmol malondialdeído (MDA)/mg proteína,

G1:0,36+-0,16 nmol MDA/ mg proteína e G4, 0,32+-0,13 nmol MDA/ mg proteína, resultados significativos (p< 0,001); Hipocampo: ratos do G3 tiveram aumento de EO 0,52+- 0,17 nmol MDA/ mg proteína, G1, 0,31+-0,09 nmol MDA/ mg proteína e G4, 0,35+-0,11 nmol MDA/mg proteína(p<0,001); Cerebelo: G1, 1,11+-0,79 nmol MDA/mg proteína, G2, 1,18+-0,79 nmol MDA/mg proteína; G3, 1,39+-1,71 nmol MDA/mg proteína e G4, 0,95+- 0,35 nmol MDA/mg proteína; resultados não significativos (p<0,252); Córtex: G1, 0,88+-0,28 nmol MDA/ mg proteína; G2, 0,84+-0,66 nmol MDA/mg proteína; G3, 0,71+-0,28 nmol MDA/mg proteína; G4, 0,78+-0,41 nmol MDA/mg proteína; resultados não significativos (p<0,926). Os resultados demonstram que a exposição ao ROFA causa EO no estriado e hipocampo de ratos, e o dano é prevenido pelo NAC. No cerebelo e córtex o tempo e concentração de ROFA utilizados não foram suficientes para causar EO, logo, estudos adicionais e complementares são necessários.

POS 12-18

Influencia de los estrógenos sobre el estrés oxidativo en intestino de ratas tratadas crónicamente con aluminio.María del Carmen Contini, Marcela González, Néstor Millen, Stella Mahieu. Laboratorio de Investigaciones Fisiológicas Experimentales.Cátedra de Fisiología Humana.Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas. UNL. Santa Fe. Argentina

El objetivo del trabajo fue analizar las posibles variaciones del estrés oxidativo en intestino de ratas hembras controles, ovariectomizadas y/o tratadas con aluminio (Al). Los animales se dividieron en 4 grupos experimentales(n=6 en cada uno): controles (C), ovariectomizadas (OVX), inyectadas i.p. con lactato de aluminio (0.62 mg de aluminio/100 g peso corporal), 3 veces por semana, durante 3 meses (LAC) y combinación de ambos tratamientos (OVX+LAC). Se determinó el grado de lipoperoxidación (LPO), las actividades de catalasa (CAT) y glutation peroxidasa(GSH-Px) y el contenido de glutation (GSH) en mucosa intestinal. Se controló el peso corporal y la concentración de creatinina plasmática [Creat.] como marcador de masa muscular. Los resultados están expresados como la media ± EEM. *p<0.05 vs C.LPO (nmolMDA/gmuco-saintestinal): C: 103.2 ± 9.32; OVX: 102.2 ± 8.5; LAC: 125.2 ± 1.7; OVX+LAC: 168.3 ± 27.4*.CAT(U/mgproteínas)C: 0.41 ± 0.11; OVX: 0.32 ± 0.05; LAC: 0.43 ± 0.05; OVX+LAC: 0.55 ± 0.13. GSHPx(nmolNADPH/ min/mgproteínas) C: 23.5 ± 2.9; OVX: 20.8 ± 5.1; LAC: 36.1 ± 3.5; OVX+LAC: 34.2 ± 3.8*.GSH(umol/mgproteínas)C: 2.98 ± 0.06; OVX: 2.44 ± 0.10; LAC: 3.03 ± 0.16; OVX+LAC: 4.03 ± 0.2*.[Creat.](mg/dl): C: 0.49 ± 0.02; OVX: 0.33 ± 0.01*; LAC: 0.50 ± 0.02;OVX+LAC: 0.35 ± 0.03*. En los grupos OVX se encontró un aumento en el peso del 20% con respecto al grupo C, con disminución de la concentración de creatinina plasmática indicando una reducción de la masa corporal. El aluminio produce un aumento del estrés oxidativo en el grupo OVX+LAC demostrando que ante la carencia de estrógenos se suprime el efecto protector de los mismos sobre la mucosa intestinal con aumento de la LPO, GSH-Px y GSH.

POS 12-19

La hipovolemia aguda activa al sistema del óxido nítrico (NO) cardiovascular en ratas jóvenes y adultas. Da Rosa P; Valli G; Arreche N; Arza P; Fellet A, Arranz C, Balaszczuk AM. Cátedra de Fisiología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Buenos Aires, Argentina.

El grado de hemorragia (H) y la edad modularían la respuesta del NO cardiovascular durante la hipovolemia. **Objetivo:**Estudiar la actividad de la óxido nítrico sintasa (NOS) en las alteraciones hemodinámicas provocadas por una H leve (HL: 5% de la volemia) y severa (HS: 20% de la volemia) en distintos grupos etarios. **Métodos:** Grupos de animales (n=10/grupo etario): C=control; HL; HS; C+L-NAME (1 mg/kg iv seguido de 0.5 mg/kg.h iv=100 µl/h), HL+L-NAME; HS+L-NAME. Evaluamos la actividad de NOS (técnica NADPH diaforasa) a las 2 hs del sangrado en aorta torácica(AT), aurícula(A) y ventrículo(V). **Resultados:** (d=delta) La HL disminuyó la presión arterial media (PAM,mmHg) en ratas jóvenes (dPAM=18±2) y adultas (dPAM=24±3). La HS disminuyó la PAM en ratas jóvenes (dPAM=38±2) y adultas (dPAM=35±2). La inhibición del NO aumentó la PAM a las 2 hs de la HL en ratas jóvenes y adultas vs basales (jóvenes: 98±4 mmHg basal, 124±5* mmHg 2hs; adultas: 88±3 mmHg basal, 121±4* mmHg 2 hs;*p<0.001). En la HS el L-NAME restauró la PAM. A las 2hs, la frecuencia cardíaca (FC) aumentó en ratas jóvenes y adultas, siendo mayor el incremento en las últimas (jóvenes: dHL= 30±5, dHS=60±5; adultas: dHL=82±2, dHS=111±5). El L-NAME anuló los cambios en FC inducidos por la H. Actividad de la NOS: a)en ratas C la actividad en A, endotelio y músculo liso de AT fue menor en ratas adultas que en jóvenes; b)ratas jóvenes: HL aumentó la actividad en músculo liso de AT(20%) y HS en V(23%), A(45%), músculo liso(21%) y endotelio de AT(21%); c)ratas adultas: HL aumentó la actividad en V(9%), músculo liso(20%) y endotelio de la AT (18%) y HS en A(23%), V(42%), músculo liso(28%) y endotelio de AT(46%). **Conclusión**: La activación del sistema del NO cardiovascular ante la hipovolemia estaría condicionada por el grado de hemorragia y por el grupo etario estudiado.

POS 12-20

Estrés oxidativo hepático inducido por el aluminio en ratas hembras: efecto protector del estradiol. Marcela A. González, María del Carmen Contini, Néstor Millen, Stella Mahieu. Lab. de Investigaciones Fisiológicas Experimentales (LIFE). FBCB. UNL. Santa Fe. Argentina.

La exposición crónica al aluminio (AL) ocasiona alteraciones en la función hepática vía inducción de estrés oxidativo en ratas machos. El objetivo del siguiente

trabajo fue evaluar la posible protección del estrógeno en la producción de estrés oxidativo ocasionado por el metal. Se trabajó con ratas Wistar, hembras divididas en 4 grupos experimentales (n=6 c/u): controles (C); ovariectomizadas (OVX); tratadas durante 3 meses con Lactato de Aluminio (0.62 mg Al/100 g pc) inyectadas ip (AL) y ovariectomizadas tratadas con AL (OVXAL). Se estudiaron concentraciones plasmáticas de enzimas marcadoras de daño hepático y el perfil lipídico a través del dosaje de colesterol, HDL colesterol y triglicéridos. Además se evaluaron los parámetros vinculados al estrés oxidativo: contenido de glutation (GSH); nivel de lipoperoxidación (LPO) y actividad de glutation peroxidasa y catalasa (GSH-Px;CAT). Los resultados fueron expresados como la media ± ESM: * $p<0.05$ vs C. LPO (nmolMDA/gtej.húm)C: 202±12; OVX: 226±13; AL: 218±15; OVXAL 336±18*. GSH (mol/gtej.húm)C: 3.1±0.2; OVX: 3.3±0.2; AL: 3.8±0.09*; OVXAL: 3.7±0.1*.GSH-Px (nmol NADPH/min.mg prot)C: 54±6; OVX: 44±2; AL: 86±8*; OVXAL: 80±5*. CAT (U/min.mg.prot)C: 0.4±0.03; OVX: 0.5±0.1; AL: 0.48±0.2; OVXAL: 0.4±0.05. Col (g/dl)C: 65±2; OVX: 79±3; AL: 67±4; OVXAL: 90±4*. TG (g/dl)) C: 50±3; OVX: 66±4*;AL: 54±2; OVXAL: 82±2*.El aumento del perfil lipídico y del peso corporal en los grupos con OVX podrían estar vinculados al déficit estrogénico. No se observaron variaciones significativas en las enzimas marcadoras de daño hepático. El AL produjo estrés oxidativo evidenciado por el aumento de la LPO y de los sistemas antioxidantes en el grupo OVXAL ante la ausencia de estrógenos. Estos resultados sugieren que el estradiol sería responsable de la resistencia hepática al estrés oxidativo inducido por el AL.

POS 12-21

Alterações na atividade de enzimas antioxidantes e nos níveis de nitritos/nitratos em medula espinal após a indução de dor neuropática. Renata Padilha Guedes, Camila M. Teixeira, Lidiane Dal Bosco, Alex Sander Araújo, Maria Flávia Marques Ribeiro, Suzana Llesuy, Adriane Belló-Klein, Wania A. Partata, Departamento de Fisiologia, UFRGS, Brasil.

A indução de dor neuropática causa diminuição das defesas antioxidantes primárias na medula espinal de ratos. Sete dias após a axotomia periférica, a atividade da catalase (CAT) e da superóxido dismutase (SOD) reduziu 40% e 30% respectivamente. Nesse mesmo período, outros estudos apontam um aumento na atividade da óxido nítrico sintase (NOS). A queda da atividade da SOD, pode causar uma intensificação da reação do ânion superóxido com o óxido nítrico resultando na formação de peroxinitrito, composto altamente nocivo às células. Este trabalho teve como objetivo verificar os níveis de nitritos/nitratos (NO_2/NO_3) em medula espinal de ratos 1, 3, 7 e 15 dias após a secção do nervo ciático. Para isso, foram utilizados ratos Wistar adultos, machos, divididos em três grupos (n=5): denervado, no qual foi realizada a secção do nervo ciático; sham, no qual o nervo foi somente exposto; e controle, que não sofreu manipulação. Os animais foram sacrificados 1, 3, 7 e 15 dias após a lesão, e a medula espinal lombossacral retirada e homogeneizada para a medida da concentração de NO_2/NO_3 pelo método descrito por Granger et al. (1999). Os dados foram analisados através de anova de uma via seguido de Student-Newman-Keuls e expressos em μmol/L. Aos 7 dias houve aumento significativo dos NO_2/NO_3 no grupo desnervado (10,84±0,36) em relação aos grupos sham (9,24±0,42) e controle (8,13±0,51). O acréscimo também foi significativo no grupo desnervado (11,36±0,05) no primeiro dia após a lesão, entretanto, somente quando comparado ao grupo controle (10,23±0,28). O aumento de NO_2/NO_3 mostrou correlação com a diminuição da SOD e aumento da NOS em situações de dor neuropática, o que pode tornar os neurônios espinhais mais suscetíveis ao dano oxidativo. (FAPERGS, CNPq, CNPq-PIBIC).

POS 12-22

Lipopolysaccharide-induced reactive oxygen species production is dependent on the activation of the p47 subunit from a NAD(P)H oxidase in endothelial cells. Felipe Simon[1,2], Ricardo Fernández[1], Kevin Maisey[3], Andrés Stutzin[2]. [1]Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello. [2]Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. [3]Facultad de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile, Santiago, Chile.

It has been demonstrated that NAD(P)H oxidase (Nox) activation is crucial for cytokine-dependent ROS production in endothelial cells. However, lipopolysaccharide (LPS)-induced ROS generation *via* a cytokine-independent pathway is not well understood. A direct interaction of the LPS receptor (TLR-4) with Nox has been suggested as a putative mechanism for LPS-induced ROS production. To explore this problem LPS-induced ROS production in the endothelial cell line E.A. hy 926 was studied. Our results demonstrate that cells exposed to LPS increased intracellular ROS generation in a dose-dependent manner, achieving a maximum at 20 min after treatment. RT-PCR studies showed that this cell line expresses TLR-4 mRNA, and that LPS incubation for up to 4 h failed to induce TNF-α and IL-1β mRNA expression suggesting that LPS-induced ROS generation is independent of TNF-α and IL-1β expression. LPS-induced ROS generation was inhibited by the Nox inhibitors DPI and apocynin. In line with this result, transfection of a dominant negative mutant of the p47 subunit from Nox, which prevent its phosphorylation, decreased LPS-induced ROS production. Furthermore, LPS-induced ROS production was inhibited by PLC, Pi3-K, generic PKC, and conventional PKC inhibitors. We conclude that LPS-induced ROS generation is mediated by a cytokine-independent mechanism in endothelial cells. In addition, the phosphorylation of p47 subunit is critical for Nox activation, possibly involving a mechanism dependent on PLC/Pi3-K/cPKC

pathway. Supported by UNAB DI 32-04 (FS), UNAB DI 60-04 (RF), FONDAP 15010006 (AS). We thank to B. Babior for providing the p47 dominant negative mutant and C-J Edgell for providing the E.A. hy 926 cell line

POS 12-23

Estresse Oxidativo Pulmonar De Ratos Que Realizaram Exercício Durante Exposição À Poluição Atmosférica De Porto Alegre. Marcelo Petry[2], Thiago Heck[2], Jéssica Lima[2], Roberto Damiani[2], Alexandre Maslinkiewicz[2], Álvaro Oliveira[1], Pedro Dall'Ago[2], Cláudia Rhoden[2]. [1]Escola de Educação Física, UFRGS. [2]Lab. de Estresse Oxidativo e Poluição Atmosférica, Pós-graduação em Ciências Médicas, FFFCMPA, Porto Alegre, Brasil.

Introdução: Durante o exercício ocorre aumento na produção de Espécies Ativas de Oxigênio(EAO), podendo gerar estresse oxidativo (EO). Há evidências que esse tipo de resposta também é característica da inalação do material particulado (MP), oriundo da poluição do ar. Portanto, este estudo visa verificar o efeito da inalação do ar de Porto Alegre durante o exercício no dano oxidativo pulmonar. **Métodos e Resultados:** Ratos Wistar, machos, adultos, foram divididos em 4 grupos: G1: Exercício em ar filtrado por 20min(n=12); G2: Exercício em ar filtrado por 60min(n=8); G3: Exercício exposto por 20min(n=12) e G4: Exercício exposto por 60min(n=8). O protocolo de exercício (natação) simultaneamente a exposição ao ar de Porto Alegre foi realizado com os animais dentro de caixas de acrílico(20cmX20cmX60cm), hermeticamente fechadas, preenchidas 45 cm com água 30°C. Pela ação de bombas de vácuo é estabelecido um fluxo constante de ar nas caixas. O ar vem diretamente de uma rua de intenso tráfego automotor. Uma das caixas contém um filtro (PM 0,8. Millipore) na entrada de ar (G1 e G2). Imediatamente após o experimento, mediu-se a concentração de lactato venoso. Os ratos foram sacrificados e o pulmão coletado para análise de EO por TBARS. Os dados foram comparados por ANOVA 1 via seguido pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Os grupos G1 e G3 apresentaram maior concentração de lactato (mmol/L) que G2 e G4(G1=4,17±0,593; G2=2,975±0,759; G3=4,391±0,843 e G4=2,925±0,719; $p<0,001$).Quanto à análise do EO, não houve diferença entre os grupos. Os resultados são expressos em nmol MDA/mg de proteína. (G1=0,0785±0,021; G2=0,108±0,04; G3=0,094±0,054 e G4=0,114±0,055. $p>0,05$). **Conclusões:** A prática de exercício, nas condições do ar de Porto Alegre, quando comparado ao ar filtrado, não foi capaz de gerar aumento do EO pulmonar, independentemente da duração e intensidade do exercício demonstrada pela concentração de lactato. **Apoio Financeiro:** CAPES, FFFCMPA, AAPeFaTo, CNPq, FAPERGS.

POS 12-24

Effects of melatonin in the antioxidant defense system of gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulatus*. Fábio E. Maciel, Bianca P. Ramos, Márcio A. Geihs, Marcelo A. Vargas, José M. Monserrat, Luiz Eduardo M. Nery, Depto Ciências Fisiológicas, FURG, Brasil.

Many studies have reported the influence of melatonin in the antioxidant defense system (ADS) in vertebrates, but in crustaceans this effect was not yet tested. Thus the aim of this work was to verify whether the eyestalk ablation affects the daily variation of total oxyradical scavenging capacity (TOSC) in gills of the crab *C. granulatus*, the effect of melatonin in the TOSC and the influence of this molecule in the non-proteic sulfhydryl (NP-SH) content in an *in vitro* assay. Gills of eyestalkless crabs injected with physiological saline showed a daily variation ($p<0.05$) in TOSC values against peroxyl radicals with two peaks, one at photophase (1802±339 U TOSC.(mg of protein)$^{-1}$) and another at scotophase (2386±260 U TOSC.(mg of protein)$^{-1}$). However, no variations ($p>0.05$) in TOSC values were verified in gills of eyestalkless crabs injected with melatonin ($2x10^{-12}$mol.crab^{-1}). Gills incubated (120 min) with melatonin ($20x10^{-9}$M) did not significantly ($p>0.05$) influenced the NP-SH content respect to the control group (0.012±0.002µmoles.(mg of protein)$^{-1}$ and (0.013±0.001µmoles.(mg of protein)$^{-1}$), respectively), in contrast to tissues incubated with H_2O_2 (20mM) or with vitamin E (10^{-7}M), which an augment in NP-SH content were observed ($p<0.05$) (0.023±0.002µmoles.(mg of protein)$^{-1}$ and (0.021±0.001µmoles.(mg of protein)$^{-1}$), respectively). The results suggested that melatonin decrease the ADS of the gills, but it did not act directly in gills of *C. granulatus*, at least to the concentration used. Probably this molecule signals the organism to depress their aerobic metabolism, resulting in a decrease of reactive oxygen species production and, consequently, the antioxidant capacity.

POS 12-25

Nitric oxide (NO) centrally reduce vasopressin and oxytocin release induced by central cholinergic stimulation. Wagner L. Reis; Alexandre Giusti-Paiva; Lisandra O. Margatho; Lucila L.K. Elias; José Antunes-Rodrigues. Laboratory of Neuroendocrinology, Department of Physiology, School of Medicine of Ribeirao Preto, University of Sao Paulo, Brazil.

Central administration of carbachol (Carb), an agonist cholinergic, stimulates vasopressin (AVP) and oxytocin (OT) release and the subsequent antidiuretic and natriuretic induced effects. It has been also shown that nitric oxide (NO), which is synthesized and released in the hypothalamus, also modulates AVP and OT release. In the present study we evaluated the effects of the central nitrergic system on the neurohypophysial hormonal release and water and sodium excretion induced by cholinergic stimulation. Male Wistar rats (±260g) received an injection in the lateral ventricle (LV) of L-NAME (250µg), an inhibitor of NO synthase, SNAP (5µg), a donor of NO, or saline (0.15M NaCl), and 20min after, a LV injection of Carb (100ng) or saline.

The rats were decapitated 5min after for the blood collection for AVP and OT determination. Another set of rats, placed into individual metabolic cages, was submitted to the same experimental protocol for the urine collection during 60min. Carbachol promoted an increase of AVP ($P<0.001$) and OT ($P<0.001$) release, a reduction of diurese ($P<0.001$) and an increase of natriuresis ($P<0.001$), compared to the saline group. The pre-treatment with L-NAME in the group stimulated with Carb enhanced the AVP ($P<0.01$) and OT ($P<0.001$) release, and also the antidiuretic ($P<0.05$) and natriuretic ($P<0.05$) effects. On the other hand, SNAP reduced the AVP ($P<0.05$) and OT ($P<0.01$) release as well as the antidiuretic ($P<0.05$) and natriuretic ($P<0.05$) responses induced by Carb. The present data demonstrate that the central nitrergic system modulates the AVP and OT secretion in response by cholinergic stimulation, suggesting an inhibitory modulation of this system in the control of water and sodium excretion. Financial support: FAPESP and CNPq.

POS 13
Fisiología del Ca^{++} y canales de Ca^{++}
Ca^{++} Channels and Ca^{++} Physiology

POS 13-01

Gap junction-mediated Ca^{2+} entry and NO production in injured *ex vivo* endothelium of rat aorta. R. Berra-Romani[1], A. Raqeeb[2], A. Oldani[2], D. Smaniotto[2], F. Speroni[2], V. Taglietti[2], F. Tanzi[2]. [2]Department of Physiological and Pharmacological Sciences, University of Pavia, Pavia, Italy. [1]School of Medicine, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Pue, México.

Objective- We investigated Ca^{2+} signals and nitric oxide production triggered by endothelium disruption in endothelial cells (ECs) adjacent to the injury. ***Methods and Results-***The inner wall of rat aorta was scraped by a microelectrode and Ca^{2+} signals and nitric oxide production were investigated by fluorescence microscopy. Mechanical injury caused an immediate increase in intracellular Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$), followed by a decay phase lasting up to one hour. The initial response was present in Ca^{2+}-free solution or after Ca^{2+} store depletion, and was inhibited by U73122 (a phospholipase C inhibitor) and by suramine (a P_{2Y} receptor antagonist). During the decay phase, i) Inhibitors of: phospholipase C (U72122), voltage-activated (Verapamil), and store-operated and receptor-activated Ca^{2+} channels (SK&F 96365) did not affected the $[Ca^{2+}]_i$, ii) Ni^{2+} decreased the $[Ca^{2+}]_i$, whereas Gd^{3+} was ineffective. Differently, Ca^{2+} influx evoked by ATP or acetylcholine was inhibited by Gd^{3+} but not by Ni^{2+}. The gap junction blocker palmitoleic acid decreased the $[Ca^{2+}]_i$ but ECs adjacent to the scraped area rarely incorporated ethidium bromide or Lucifer Yellow. Finally, injury was followed by nitric oxide production. ***Conclusion-*** These results suggest that, in *in situ* ECs of excised rat aorta, the injury causes an immediate increase in $[Ca^{2+}]_i$ due to nucleotide-induced Ca^{2+} release from intracellular stores and Ca^{2+} influx from extracellular medium. During the long-lasting decay phase of the Ca^{2+} signal, gap junction channels witch are no longer coupled to other ECs do not fully close and Ca^{2+} influx occurs, allowing a prolonged increase in $[Ca^{2+}]_i$. Finally, it was evidenced that injury was accompanied by nitric oxide production in ECs near the injury.

POS 13-02

Transferencia de canales de calcio por medio de vectores amplicón derivados del Virus del Herpes Simple tipo I [1]Lorena I. Ibañez, [2]Alberto Epstein, [1]Osvaldo Uchitel. [1]Laboratorio de Fisiología y Biología Molecular. IFIBYNE, Fac de Ciencias Exactas y Naturales, UBA, Argentina. [2]Laboratorio de Genética Molecular y Celular, Universidad Claude Bernard, Lyon I, Francia.

Los canales de calcio dependientes de voltaje controlan la mayoría de los procesos dependientes de calcio en la célula, incluyendo liberación de neurotransmisor, excitabilidad, plasticidad neuronal, expresión génica dependiente de actividad, sinaptogénesis, diferenciación y supervivencia neuronales. Los canales de tipo P/Q tienen un alto nivel de expresión en terminales presinápticos y están directamente acoplados a la liberación de neurotransmisor. La eliminación de estos canales induce un rápido y progresivo síndrome neurológico caracterizado por pérdida del balance, ataxia y distonía. En el presente trabajo se recupera la expresión de canales de tipo P/Q en animales que carecen del mismo utilizando como herramienta de transferencia génica a vectores amplicón derivados del virus del Herpes Simple tipo I. Los amplicones son vectores defectivos que tienen la ventaja de no poseer genes virales y de permitir que la mayoría del genoma del virus (aproximadamente 150 Kbp) y el volumen de la cápside puedan ser usado para incorporar grandes cantidades de DNA foráneo. La secuencia transgénica clonada en el plásmido amplicón pAEUA-2, codifica para el cDNA del canal de calcio P/Q de humano, variante delta47. Estos plásmidos expresan además el gen de la proteína fluorescente verde (GFP) la cual se utiliza para la determinación de la expresión del plásmido. El análisis de la expresión del transgen se realizó por técnicas de PCR en tiempo real, inmunofluorescencia y western blot. La capacidad de la secuencia clonada para producir corrientes de calcio bloqueables por la toxina □-Aga, específica para canales de calcio de tipo P/Q, se determinó por medio de experimentos de patch clamp en cultivos primarios.

POS 13-03

The incorporation of calcium (Ca^{2+}) sparks flow to myocyte model improves myoplasmic Ca^{2+} regulation. A study employing a force generating model. Jorge A. Negroni and Elena C. Lascano. Universidad Favaloro. Buenos Aires, Argentina.

We developed a modified myocyte model using in general the ionic mechanisms proposed by Luo and Rudy (1994) and the myofibrilar Ca^{2+} kinetics and force development of Negroni and Lascano (1996), Modifications were: 1) the reticular release of Ca^{2+} was changed to the mechanism described by Hillgeman (1985), 2) the reticular discharge was assumed to take place in a subspace (diadic cleft, DC) where the L channels provide

external Ca^{2+} to the myoplasm (Winslow, 1999), 3) the inclusion of a Ca^{2+} spark flow that depends only on the difference of Ca^{2+} concentrations ($[Ca]_{JSR}$ - $[Ca]_{DC}$) unloading Ca^{2+} from the junctional sarcoplasmic reticulum (JSR) to the DC (flow values are in accordance with Cheng, 1993), 4) force generation was improved by introducing a cooperative Ca^{2+} binding mechanism, 5) a well justified (Huxley, 1957) shortening effect on bridge detachment, and 6) a linear term added to the parallel element (Matsuoka, 2004). The model was written in MATLAB 6.5. RESULTS: Force-length-Ca^{2+}: Hill coefficient: 5.21 and $[Ca]_{50}$ = 0.92 μM; these values and their length dependence are according to Dobesh (2002). Stiffness-frequency: Minimum value at 1.6 Hz. (Shibata, 1987; Saeki, 1991). Force-frequency: The force increased as frequency increased similarly to the rabbit (Bers, 1985). Rest potentiation: It followed rabbit behavior, increasing after the stimulus was reestablished with a time constant = 13 s (Bers, 1985). Heart failure: It shortened the action potential and decreased the Ca^{2+} transient (Winslow, 1999; Puglisi, 2001). Maximal force decreased but relatively less than transient Ca^{2+} . CONCLUSIONS: The model was able to perform isometric and isotonic contractions in good accordance with action potential and ionic flows and shows an experimentally supported beat to beat Ca^{2+} regulation.

POS 13-04

Gain of function of familial hemiplegic migraine type 1 R192Q calcium channel mutation on Calyx of Held presynaptic P/Q-type calcium currents. C.González Inchauspe [(1)], A van den Maagdenberg[(2)], RR Frants[(2)], MD Ferrari[(3)] and OD Uchitel[(1)]. 1-Inst. Fisiología, Biología Molecular y Neurosciencieas. CONICET. FCEyN, UBA, Argentina. 2-Dep. of Human Genetics & Neurology 3-Dep. of Neurology, Leiden University Medical Centre, The Netherlands.

$Ca_v2.1$ (P/Q-type) Ca^{2+} channels are located throughout the mammalian nervous system at presynaptic terminals, where they play a prominent role in controlling neurotransmitter release. Familial hemiplegic migraine type 1 (FHM-1) is a Mendelian subtype of migraine with aura that is caused by missense mutations in the CACNA1A gene that encodes the pore-forming α_1 subunit of voltage-gated neuronal $Ca_v2.1$ Ca^{2+} channels. We used auditory brainstem slices from knockin transgenic mice with the pathogenic FHM-1 human mutation R192Q in the CACNA1A gene *(Neuron 41: 701, 2004*) to investigate, with the whole cell patch clamp technique, presynaptic Ca^{2+} currents (Ipca) from the calyx of Held nerve terminal and excitatory postsynaptic currents (EPSCs) at the soma of the neurons in the medial nucleus of the trapezoid body (MNTB). In both WT and KI synapses, Ca^{2+} currents were predominantly mediated by P/Q type Ca^{2+} channels, with ω-agatoxin IVA blocking 90% of the Ca^{2+} currents. No differences were found in the density and facilitation of Ipca, neither in facilitation of transmitter release (EPSCs). However, the current-voltage (I-V) relationship revealed that $Ca_v2.1$ Ca^{2+} channels activate at more negative potentials in KIN than in WT mice. Short term depression of EPSCs in response to high frequency stimulation was not altered. However, the rate of recovery from synaptic depression has been found to be faster in KI mice than in WT. These studies in the CNS synapses support the idea that a gain-of-function of Cav2.1 channels might underlie alterations in cortical excitability responsible for FHM.

POS 13-05

Capsaicin-induced avoidance behavior in the terrestrial Gastropoda *Megalobulimus abbreviatus*: evidence for TRPV-1 signalling and opioid modulation in response to chemical noxious stimuli. Pedro Kalil-Gaspar, Simone Marcuzzo, Paula Rigon, Cynthia Goulart Molina, Matilde Achaval. PPG Neurociências, Depto. de Ciências Morfológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

The capsaicin receptor TRPV1 (transient receptor potential channel - vanilloid 1) is a nonselective cation channel which promotes calcium influx in neurons when activated by noxious stimuli, such as heat, low pH, some lipoxigenase products, the endocannabinoid anandamide and vanilloids. The land snail *Megalobulimus abbreviatus* displays avoidance behaviour, elevating its head-foot complex when placed on noxious substrates, and is a simple and useful model for nociceptive experiments. The aim of this study was to measure the nociceptive response (avoidance latency) of the terrestrial gastropod *M. abbreviatus* after capsaicin (0.5% aqueous solution) topical exposure. Animals (N = 8 in each group) were pretreated with saline, morphine (20 mg/kg), naloxone (5.0 mg/kg) or morphine plus naloxone 15 min prior to capsaicin stimulus. Latencies were measured when the animal lifted its head-foot complex 1 cm from the substrate. Data were compared by one-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey post hoc (level of significance set at $P < 0.05$), in SPSS 7.0 software. RESULTS (means + SD): topical capsaicin elicited robust withdrawal behavior (20.0 +/- 2.79 s), which was decreased by morphine (26.5 +/- 3.44 s). Naloxone, either alone (7.9 +/- 1.21 s) or in combination with morphine (8.7 +/- 1.25 s), markedly reduced latencies indicating an opioid-receptor-mediated mechanism in capsaicin-induced responses and role for the heat-gated calcium channel TRPV1 in *M. abbreviatus* nociceptive behavior. This work was supported by CNPq and CAPES.

POS 13-06

Determinantes moleculares de la permeabilidad al calcio en el receptor colinérgico nicotínico α9α10 Jessica Savino, Paola V. Plazas, Eleonora Katz, Ana B. Elgoyhen. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (CONICET), Buenos Aires, Argentina.

En la cóclea se transforman los estímulos auditivos en

señales eléctricas que son enviadas al sistema nervioso central para ser procesadas. Los receptores sensoriales son las células ciliadas, que se dividen en internas (CCI) y externas (CCE). Las CCI son los fonoreceptores; las CCE están implicadas en la amplificación mecánica del sonido y en la sintonización fina de la membrana basilar. Las CCE reciben inervación eferente colinérgica, la cual está mediada por el receptor nicotínico (nAChR) compuesto por las subunidades α9 y α10. La entrada de Ca^{2+} a través de este receptor y la subsiguiente activación de un canal de K^+ sensible al calcio producen una hiperpolarización de la membrana plasmática que tiene como consecuencia fisiológica una reducción en la sensibilidad. El objetivo del presente trabajo fue identificar determinantes estructurales del poro del canal involucrados en el proceso de permeabilidad al Ca^{2+} del nAChR □9□10. Los cADNs de α9 y α10, donde los aminoácidos E-1´ o L 16´ fueron mutados a alanina (A) y treonina (T) respectivamente, se expresaron en ovocitos de *Xenopus laevis* y se estudiaron las corrientes colinérgicas mediante fijación de voltaje con dos electrodos. Para evaluar la permeabilidad al Ca^{2+} de los receptores mutantes, se registraron las corrientes producidas por ACh antes y después de la incubación con el quelante de Ca^{2+} BAPTA-AM o reemplazando el Ca^{2+} extracelular por Ba^{2+} y se realizaron curvas de corriente-potencial (I-V) en presencia de distintas concentraciones de Ca^{2+} extracelular. En los receptores portadores de la mutación L16'T no se detectaron cambios en la sensibilidad a la ACh ni en la permeabilidad al Ca^{2+}, mientras que la mutación E-1'A estaría alterando la permeabilidad al Ca^{2+} del receptor α9α10.

POS 13-07

Evaluación mecánico-iónica de la arteria umbilical humana a través de la medida de la resistencia al flujo. Mariano García, Patricia Egido, Débora González, Cátedra de Biofísica, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

El objetivo es evaluar la participación del Ca^{2+} en procesos de contracción-relajación en el músculo liso arterial a partir de medidas mecánicas, fluorescentes y calorimétricas. En esta primera etapa, se ha desarrollado una técnica para calcular la resistencia que ofrece un vaso perfundido, a través de la medición continua de la diferencia de presión entre los extremos de la misma, y del caudal. Esta técnica se diferencia de las convencionales que utilizan tiras o anillos para medir fuerza desarrollada en condiciones isométricas, ya que permite evaluar el proceso contracción-relajación a través de cambios en el radio arterial (como ocurre con el vaso "in vivo"). Además, se conserva la estructura funcional del tejido y se puede diferenciar la composición de la solución perfundente de la del baño exterior. En particular, no se han hallado antecedentes de evaluación metabólico-iónica en arteria umbilical humana perfundida. Las arterias provienen de cordones umbilicales provistos por el Instituto Médico de Obstetricia. En todos los casos se perfundió un segmento arterial de 1,5-2,0 cm de longitud con solución Krebs libre de Ca^{2+}, gaseada con carbógeno y a temperatura ambiente. Se evaluó la resistencia desarrollada a distintas presiones de perfusión, en ausencia y presencia de 1,6 mM $CaCl_2$ durante la disección y en el baño exterior, encontrándose una resistencia mayor (menor diámetro arterial) en presencia de Ca^{2+} independientemente de la presión aplicada. Por otro lado, el agregado de Ca^{2+} al medio, luego de aislarse la arteria en una solución libre del ion, provoca una respuesta contráctil muy elevada y sostenida, que se revierte lentamente al retirar el Ca^{2+} del baño. En presencia de Ca^{2+} en la solución, el aumento en la concentración de K^+ (10-40 mM) provoca un aumento en la resistencia (disminución del radio arterial) también reversible al retirar el Ca^{2+}.

POS 13-08

Characterization and Modulation of Synaptic Vesicle Pools at the Mouse Neuromuscular Junction. Paula Perissinotti, Bárbara Giugovaz-Tropper and Osvaldo Uchitel. Inst. Fisiología, Biología Molecular y Neurosciencieas. CONICET. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Recycling of used synaptic vesicles is important to maintain the efficacy of synaptic transmission. Two principal recycling strategies have been described. In one, a single vesicular pool supplies the exocytose machinery with pre-formed vesicles, and is replenished via clathrin-mediated endocytosis. In the other, subsets of vesicles recycle at or near individual active zones. Despite the initial studies of vesicle recycling carried out at the mammalian neuromuscular junction (Ribchester et al, 1994, Reid et al 1999), a detailed study of the differentiation and modulation of the vesicle pools has not been performed. We studied mouse levator auris longus nerve terminals staining and destaining using imaging FM 2-10 dye. We also used conventional electro physiological techniques to measure endplate potentials. There are at least two different pools of recycling vesicles: one preferentially loaded during the first 250 action potentials delivered at 50 Hz, with a capacity of less than 15 % of the maximum loading capacity and high probability of release, and another one, a low release probability pool, loaded during and after stimulation. Dye release was completely blocked by .□-Agatoxin, at any rate of stimulation. At high frequency synaptic transmission, Ca2+ influx through L-type channels directs the newly formed vesicles to a high release probability pool. In absence of L-type Ca2+ influx, vesicle refilling during stimulation is diminished, suggesting the suppression of a fast recycling mechanism. As a consequence of diminished endocytosis during stimulation, there is an increase amount of membrane endocytosed after tetanus.

POS 13-09

Differential effect of exercise training and β-blocker therapy on cardiac function and calcium reuptake in a genetic model of

sympathetic hyperactivity induced heart failure Natale PL Rolim[1], Jan B Batholomeu[1], Katt C Mattos[1], Kaleizu T Rosa[2], Maria Cláudia C Irigoyen[2], Eduardo M Krieger[2], José E Krieger[2], Carlos E Negrão[1,2], Patricia C Brum[1]. [1]Lab. de Fisiologia Cel. Mol. Exercício, Escola de Educação Física e Esporte da Universidade de São Paulo (USP), [2] Instituto do Coração (InCor), Faculdade de Medicina da USP, São Paulo, Brasil.

Both β-blocker (BB) therapy and exercise training (ET) are known to improve heart failure (HF) patient outcome. However the mechanism underlying their isolated beneficial effects of left ventricular (LV) function is not fully understood. **Aim.** To study the isolated effect of ET and BB on LV function and expression of proteins involved in intracellular calcium regulation (ICR) in lacking α_{2A} and α_{2C} adrenoceptor subtypes (KO). These mice present sympathetic hyperactivity associated with HF and 50% mortality rate by 7 mo of age. **Methods**. We studied KO and a wild type mice (from 5-7 mo of age). They randomly assigned to received metoprolol (7 days/wk) or ET (5 days/wk). Cardiac contractility was evaluated by echo, and protein expression of cardiac SERCA2, phospholamban (PLN), phospho-Ser16-PLN, phospho-Thr17-PLN, Na^+-Ca^{2+} exchanger (NCX) and phosphatase 1(PP1) was evaluated by Western blot. **Results**. KO displayed 30% decreased fractional shortening (FS) associated with 22% reduced SERCA2 with increased phopho-Thr17-PLN (70%), NCX (18%) and PP1 (22%) vs. WT. ET increased FS paralleled by improved ICR represented by increased SERCA, phopho-Ser16-PLN, phopho-Thr17-PLN and normalized NCX and PP1 expression. Metoprolol improved FS associated with a restored SERCA2, NCX, PP1 and phopho-Thr17-PLN to WT levels. **Conclusion**. These findings provide direct evidence for differential mechanisms by which ET and BB improve cardiac function in HF. Even though both ET and BB restore SERCA2 and NCX levels, ET presented an additional increase in phophorylation level of PLN at Ser 16 and Thr17, while BB reduced PLN phosphorylation to WT levels.

POS 13-10

Kinetics of calcium uptake in isolated chicken enterocytes. Daniel Orihuela, Silvia Garcilazo, Genoveva Devinar. Laboratorio de Investigaciones Fisiológicas Experimentales, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

Calcium entry into epithelial cells from intestinal lumen represents a crucial limiting step of overall calcium absorption process across intestine in higher organisms. To quantify the kinetic parameters of Ca entry, *in vitro* Ca uptake (CaUPT) was determined in isolated enterocytes obtained from five week-old chickens, at total Ca concentration ranging from 0.01 to 5 mM in the incubation medium, using a radiocalcium (^{45}Ca) as flux marker. Results from at least six measurements per group, performed in triplicate, showed a non-linear relationship between CaUPT and $[Ca^{2+}]$, that was fitted according to a hyperbolic equation. Maximum Ca uptake rate (V_{max}) value was 22.1 ± 3.4 nmol Ca/mg protein and the affinity constant (K_m) was 2.1 ± 0.4 mM. To characterize the process, the influence of different well-known Ca channels (CaCH) blockers and activators was tested. 10 μM Diltiazem (L-type voltage-dependent CaCH blocker), 1 nM U73122 (intracellular Ca store-activated CaCH stimulator) and 5 μM capsaicin (stimulator of VR1 receptor) had no effect. On the contrary, 10 μM A23187 (Ca ionophore) produced an increase of 20% in V_{max} ($P < 0.05$). In enterocytes from chickens fed a vitamin-D deficient diet, both V_{max} and K_m were reduced ($P < 0.05$). Our *in vitro* results show that Ca enters into isolated chicken enterocytes following a saturation process that could be described by a Michaelis-Menten-type equation, although due to a non-polarized cells model were used, it is not possible to distinguish apical versus basolateral Ca transport.

POS 14
Fisiología y fisiopatología respiratoria
Respiratory physiology and physiopathology

POS 14-01

NFAT is activated in the cardiovascular system in an animal model of sleep apnea-induced hypertension. Sergio de Frutos Garcia; Laura Duling; Rhyannon Spangler; Dominique Alo; Nancy Kanagy; Laura Gonzalez Bosc. Cell Biology and Physiology. University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA.

Obstructive sleep apnea (OSA) is defined as intermittent respiratory arrest during sleeping and is associated with increased incidence of hypertension, peripheral vascular disease, stroke and sudden cardiac death. During the apneas, there are intermittent episodes of hypoxia/hypercapnia (IH). During IH, endothelin-1 (ET-1) is elevated along with vascular smooth muscle cell (VSMC) intracellular $[Ca^{2+}]_i$. Both Ca^{2+} and ET-1 are linked to gene transcription through the nuclear factor of activated T-cells (NFAT). The goal of this study was to determine if IH increases mean arterial pressure (MAP) in mice in correlation with an increase in NFAT transcriptional activity in the cardiovascular system. MAP was measured by telemetry in FVBN male mice exposed to air-air cycles for 7 days and then up to 24 days of IH cycling during their sleep period (20 brief exposures/hr to 5% O_2/5% CO_2) for 7 hr/day. IH increased MAP and altered activity patterns suggesting disrupted sleep behavior and circadian rhythms. NFAT-luciferase reporter male mice were exposed to Air-Air or IH-Air for 2, 7 and 14 days. NFAT luciferase reporter activity was significantly elevated at 2 and 7 days in mesenteric arteries and aorta, at 7 days in pulmonary arteries and at 2 and 14 days in right and left ventricle and lung. No significant differences were observed in cerebral arteries. We also found that NFATc3 nuclear accumulation in pulmonary arterial VSMC followed the same pattern observed for luciferase activity. These results indicate that IH induces hypertension and increases NFAT transcriptional activity in every component of the cardiovascular system suggesting NFAT activation may contribute to cardiovascular changes associated with sleep apnea-induced hypertension. Supported by Scientist Development Award, American Heart Association.

POS 14-02

Role of NFATc3 in chronic hypoxic pulmonary hypertension. Sergio de Frutos Garcia; Rhyannon Spangler; Dominique Alo; Laura Gonzalez Bosc. Cell Biology and Physiology. University of New Mexico, Albuquerque, NM, USA.

Physiological responses to chronic hypoxia (CH) include polycythemia, pulmonary arterial remodeling and vasoconstriction, leading to right ventricular (RV) hypertrophy. The aim of this study was to evaluate the role of the Ca^{2+}-dependent transcription factor, NFAT, in CH-induced pulmonary hypertension. NFAT-luciferase mice were exposed to normoxia (N, 630 torr) or CH (380 torr) for 48 h, 1 or 3 wks. Intrapulmonary arteries were isolated and luciferase activity was normalized to total protein. Exposure to CH for 48 h or 1 week significantly increased NFAT luciferase reporter activity, decreasing at 3 weeks (luciferase activity/μg protein: N=1.62±0.11; CH 48 h=3.99± 0.72*; 1 wk=2.89±0.20*; 3 wks=2.48±0.20, *p<0.05 vs. N, n=5). Also, we found an increase in NFATc3 nuclear translocation in small pulmonary arteries smooth muscle (SM) from CH mice. These results demonstrate that CH activates NFAT and suggest that NFAT is an early response transcription factor. In this study, CH increased the expression of SM α-actin and decreased K_V 1.5 and 2.1 in isolated PA, consistent with arterial remodeling and increased vasoconstriction. Cyclosporin A (CsA, 25 mg/Kg/day s.c.), the calcineurin/NFAT inhibitor, prevented CH-induced up-regulation of α-actin, downregulation of K_V 1.5 and 2.1 and right ventricular (RV) hypertrophy. In addition, in NFATc3 knockout mice CH neither induced RV hypertrophy nor increased PA α-actin levels, suggesting that NFATc3 is the isoform involved in CH-induced pulmonary hypertension. Our findings strongly suggest that NFAT plays a role in CH-induced arterial remodeling and vasoconstriction, which lead to pulmonary hypertension and RV hypertrophy. Supported by the Dedicated Health Research Funds of the UNM SOM and the Government of Spain.

POS 14-03

Mitochondrial ROS, cellular ATP levels and carotid body chemoreceptor cell activation Ana Obeso, Angela Gomez-Niño, Constancio Gonzalez and Mª Teresa Agapito. Depto de Bioquímica y Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Valladolid. España.

O_2 chemoreception in carotid body chemoreceptor cells involves inhibition of K^+ channels which leads to cell depolarization, Ca^{2+} channel activation and Ca^{2+}-dependent neurotransmitter release. How K^+ channels are inhibited by hypoxia is not known. Oxygen reactive species (ROS) have been proposed as mediators of this inhibition, albeit in opposite manners. To some authors hypoxia would *decrease* NADPHoxidase-dependent ROS production, and the ensuing reduction of disulfide bonds in the K^+ channel proteins would cause their inhibition; to others, hypoxia would *increase* mitochon-

drial ROS production with the ensuing oxidation of sulfhydryl groups causing K^+ inhibition and chemoreceptor cell activation. Aside from hypoxia, chemoreceptor cells are activated by other natural sitmuli (low pH, high PCO_2) and chemical agents, among them mitochondrial venoms. Trying to define the relationship between ROS production and cell activation, we have used venoms acting at the different mitochondrial complexes and determined the cell redox status (glutathion redox potential; E_{GSH}), the levels of ATP and the activity of chemoreceptor cells as their rate of release of neurotransmitters. All experiments were repeated in the presence of N-acetyl cisteine, a powerfull reducing agent. We found that rotenone and nitro-propionate only altered E_{GSH} at high concentrations, yet they activated transmitter release and decreased ATP levels at all concentrations tested. Antimycin and sodium azide caused dramatic decreases in E_{GSH} at all concentrations and caused strong release response and ATP decreases. The uncoupler dinitrophenol did not affect E_{GSH} nor changed ATP levels (unless very high concentrations were used) yet, it activated chemoreceptor cells at all concentrations. N-acetylcisteine corrected all deviations of the E_{GSH} but did not affect the other two parametters. It is concluded that there is not any relationship between mitochondrial ROS production and chemoreceptor cell activity. Supported by Grants BFU2004-06394 (DGICYT),PI042462 (FIS) and VA045/04 (JcyL).

POS 14-04

Dinámica no lineal de la respuesta autonómica cardíaca ante la hipoxia hipobárica. Daniel Vigo; Daniel Pérez Chada; Horacio Hünicken; Santiago Pérez Lloret, Alejandro Videla; Edgardo Almitrani; Jorge Mercuri; Ramón Romero; Leonardo Nicola Siri; Daniel Cardinali. Lab. de Neurociencias, Depto. de Fisiología, Facultad de Medicina, UBA; Instituto Nacional de Medicina Aeronáutica y Espacial, Fuerza Aérea Argentina; Servicio de Neumonología, Hospital Universitario Austral.

Antecedentes: La evaluación de la respuesta autonómica cardíaca en una situación de hipoxia revela una disminución global de la amplitud de los componentes lineales de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca (VFC). No han sido evaluados indicadores no lineales que cuantifiquen correlación fractal (CoFr) o entropía (SampEn). Estos indicadores presentan valor predictivo para la aparición de arritmias fatales. Métodos: Se estudiaron 14 pilotos que como parte de su entrenamiento habitual realizan una prueba de hipoxia en cámara hipobárica. La misma consiste en la interrupción momentánea del flujo de O2 a 27.000 pies, hasta que el piloto manifiesta el primer síntoma de hipoxia. Se registró la duración del intervalo RR antes (pre), durante (hip) y después (pos) de la hipoxia mediante un Holter Cardíaco Holtech HCAA 348.1 (Servicios Computados S.A., Buenos Aires), cuantificando indicadores lineales y no lineales de VFC. Se compararon diferencias utilizando ANOVA de medidas pareadas. Resultados: Se observó una disminución en la VFC lineal, asociada a las siguientes modificaciones en los indicadores no lineales: CoFr (media ± ES): pre: 1.37 ± 0.06; hip:1.12 ± 0.13; pos: 1.33 ± 0.06; p: 0.104. SampEn (media ± ES): pre: 1.08 ± 0.08; hip: 1.42 ± 0.14; pos: 1.25 ± 0.07; p: 0.035. Discusión: El patrón observado (disminución de la variabilidad lineal asociado a un aumento de entropía) es similar al observado en pacientes coronarios que poseen mayor riesgo de fibrilación ventricular y puede reflejar alteraciones tempranas en el mecanismo de regulación autonómica del ritmo sinusal.

POS 14-05

Chemical lesions of the Nucleus Raphe Magnus decrease the ventilatory response to CO_2 but not change the thermal response in rats. Mirela Barros Dias[1]; Luciane Helena Gargaglioni[2]; Luiz Guilherme de Siqueira Branco[3]. [1]Department of Physiology, FMRP-USP, SP, Brazil.[2]Department of Animal Morphology and Physiology, FCAV/UNESP, SP, Brazil; [3]Department of Morphology, Stomatology and Physiology, FORP-USP, SP, Brazil.

Background: There are evidences that serotonin [5-hydroxytryptamine (5-HT)] is involved in the physiological responses to hypercapnia. Nucleus Raphe Magnus (NRM) is one of the cellular groups of the brainstem that contains the largest concentration of serotoninergic neurons. In the present study, we tested the hypothesis that the NRM plays a role in the respiratory and thermal responses to hypercapnia. ***Methods:*** Seven days before the experiments, male Wistar rats received microinjections of ibotenic acid (0.4 μg/0.2 μl) or vehicle (PBS, 50 mM, pH 7.4) into the NRM. Measurements of ventilation (*VE*) were performed by the body plethysmograph method, and body temperature (*Tb)* was measured by biotelemetry. Animals were exposed first to humidified room air, followed by 60 min of hypercapnia exposure (7% CO_2). ***Results:*** Hypercapnia caused hyperventilation and hypothermia in all groups. NMR lesions elicited a significant reduction of the ventilatory response to hypercapnia due to lower tidal volume (V_T) and respiratory frequency (*f*) [*VE*= 512.83±71.22 $mLkg^{-1}min^{-1}$ (ibotenic acid) *vs* 1320.42±82.49 $mLkg^{-1}min^{-1}$ (vehicle); two-way ANOVA followed by Duncan post-hoc test]. The hypercapnia-induced hypothermia was not affected by lesions of NRM. ***Conclusion:*** NRM plays a role in the ventilatory response to hypercapnia, acting on V_T and *f*, but plays no role in the hypercapnia-induced hypothermia. ***Financial Support:*** FAPESP, CNPq, PRONEX, USP.

POS 14-06

Histamina: ¿Modulador o transmisor excitatorio en el cuerpo carotídeo? [1]R. Del Rio, [1]E. Moya, [2]J. Alcayaga, [1]R. Iturriaga. Laboratorio de Neurobiología, Facultad de Ciencias Biológicas, P. Universidad Católica de Chile y [2]Laboratorio de Fisiología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile. Santiago, Chile.

Se ha propuesto que la acetilcolina, la dopamina y el ATP serían los transmisores excitatorios entre las células glómicas (quimiorreceptoras) del cuerpo carotídeo (CC) y las neuronas del ganglio petroso (GP) que las inervan. Recientemente se ha propuesto que la histamina (HA) también sería un transmisor excitatorio en esta sinapsis. En el CC de la rata, la histidil-descarboxilasa colocaliza con la tirosina hidroxilasa en las células glómicas, están presentes los receptores H1, H2 y H3 y la hipoxia aumenta la liberación de HA. Sin embargo, no hay evidencia que la HA produzca excitación quimiosensorial. En preparaciones *in vitro* de CCs y GPs de gatos, estudiamos los efectos de HA aplicada exógenamente (0.1-2.000 μg) sobre la descarga del nervio carotídeo. La HA aplicada a los CCs perfundidos vascularmente o superfundidos produjo excitación quimiosensorial, de magnitud dosis-dependiente. El bloqueo de receptores histaminérgicos redujo las respuestas evocadas por HA en la preparación del CC superfundida, pero produjo excitación quimiosensorial en la preparación del CC perfundido, indicando que la respuesta a HA tiene componentes neurales y vasculares. La HA aplicada al GP no modificó la descarga del nervio carotídeo. Finalmente, encontramos que algunos gránulos de secreción de las células glómicas presentan immunotinción positiva para HA. Los resultados muestran que las células glómicas contienen HA y que la aplicación exógena de esta produce excitación quimiosensorial. Sin embargo, como la HA no excita directamente a las neuronas del GP, proponemos que modularía el proceso quimiosensorial, actuando sobre el endotelio y el músculo liso vascular modificando el tono vascular y/o directamente sobre las células glómicas. Financiamiento: FONDECYT 1030330.

POS 14-07

Los macrófagos alveolares participan en la inflamación sistémica inducida por la hipoxia alveolar. Norberto Gonzalez, Eric Schmidt, Julie Allen, John Wood, Department of Molecular and Integrative Physiology, University of Kansas Medical Center, Kansas City, KS, USA.

La reducción de O_2 en el aire inspirado produce inflamación en la circulación sistémica. Esta respuesta incluye activación de células cebadas perivasculares, generación de radicales libres de O_2, adherencia de leucocitos al endotelio y aumento de la permeabilidad vascular. Estudios previos en nuestro laboratorio sugieren que la inflamación no es iniciada por la reducción de la PO_2 sistémica, sino por un agente originado en un sitio distante, desde donde es transportado por la circulación a lechos vasculares sistémicos. El presente estudio evalúa la hipótesis de que el presunto agente proinflamatorio se origina en los macrófagos alveolares (MA). Se utilizaron ratas en las que los MA se redujeron al 10% del valor normal, instilando por vía traqueal liposomas conteniendo clodronato de sodio. Como control se utilizaron ratas tratadas con liposomas conteniendo NaCl. La microcirculación del músculo cremáster se examinó usando microscopía intravital. Hipoxia (10% O_2 en el aire inspirado) produjo en los controles degranulación de células cebadas perivasculares, adherencia de leucocitos al endotelio de venulas poscapilares, vasoconstricción arteriolar y extravasación de albúmina. Ninguno de estos índices de inflamación se observaron en ratas hipóxicas deficientes en MA. Plasma de controles hipóxicos produjo inflamación cuando se aplicó sobre cremásteres normóxicos. Por el contrario, no hubo respuesta inflamatoria cuando el plasma de ratas hipóxicas deficientes en MA se aplicó en cremásteres normóxicos. Los resultados sugieren que los MA, estimulados por hipoxia alveolar, liberan un agente que es transportado por la circulación, lo que inicia la respuesta inflamatoria en lechos vasculares distantes, probablemente a través de la activación de células cebadas perivasculares. Estos resultados indican que activación de los MA puede originar cambios fisiopatológicos en la circulación sistémica.

POS 14-08

Efecto de la hipoxia prolongada sobre la granulocitopoyesis. Huygens P., Rivas M.M. Mide S.M.,Bozzini C.E.,Cátedra de Fisiología, Fac .de Odontología, UBA, Argentina.

La hipoxia influye sobre la hemopoyesis. El objetivo del presente trabajo es dilucidar si la relación entre policitemia y leucopenia es debida a competencia de las series roja y blanca por la *célula stem* . Ratones hembra CF1 (n=12) sometidos durante 21 días a estimulación hipobárica (23.000ft) fueron utilizados para el cultivo de progenitores Granulocítico-Macrofágicos (CFU-GM) en médula ósea . (M.O.) (Pike y Robinson). Los estimulantes específicos utilizados fueron: Factor Estimulante de Colonias Granulocítico-Macrofágicas recombinante (rCSF-GM) o Medio Condicionado de bazo con Phitohemaglutinina- P (MCPHA-P) . Los cultivos se efectuaron a los 4 días post-hipoxia por hallarse en T4 freno de la eritropoyesis y leucopenia .Se usó la fórmula CFU-GM x17 para obtener el número total de progenitores de M.O. del ratón .Los controles fueron animales normóxicos(C) .En el análisis estadístico se utilizó el test de Student.Se halló con rGM-CSF:28.492±4619 CFU-GM en C y 10.913 ±847 en T4($p<0.001$). Con MCPHA-P se halló 37.829±4494 CFU-GM en C y 16.118± 2057 en T4 ($p<0.001$). La depleción de CFU-GM y como consecuencia la leucopenia se deberían a que la hipoxia prolongada induciría a la célula stem a la autorreplicación vs la diferenciación.

POS 14-09

Papel do enriquecimento ambiental precoce sobre a memória de trabalho de ratos machos e fêmeas adolescentes submetidos à hipóxia-isquemia neonatal. Lenir Orlandi Pereira, Patrícia M. Nabinger, Atahualpa C. P. Strapasson, Carlos Alexandre Netto. PPG Neurociências. Depto de Bioquímica, ICBS, UFRGS; FFFCMPA; Brasil.

Resultados prévios do nosso grupo indicam que estimulação por ambiente enriquecido (AE) diário reverte o prejuízo de memória de trabalho no labirinto

aquático de Morris (LAM), avaliado na fase adulta de ratos machos hipóxicos-isquêmicos. O objetivo deste estudo foi avaliar as consequências do AE precoce e mantido no período da adolescência sobre a memória de trabalho de ratos, machos e fêmeas submetidos à hipóxia-isquemia (HI) encefálica neonatal. Grupos: controle, mantidos em ambiente padrão (CTAP,n=23); CT submetidos ao AE (CTAE, 21); HIAP (17) e HIAE (19).Os animais, no 7° dia de vida, tiveram a artéria carótida comum direita ocluída e foram expostos a uma atmosfera hipóxica. Do 8° ao 30° dia pós-natal foram mantidos em um AE. Após este período de estimulação, foram testados no LAM (4 sessões/dia por 4 dias consecutivos para a memória de trabalho). Analisando conjuntamente machos e fêmeas, observou-se o prejuízo de memória pela HI sem um efeito do AE: latências para encontrar a plataforma submersa dos grupos HI foram maiores que as dos CT nas 4 sessões. Na análise do comportamento dos machos, o mesmo resultado foi encontrado. Por outro lado, ao observar as fêmeas isoladamente, a ANOVA, seguida do teste de Newman-Keuls, indicou maiores latências no grupo HIAP para encontrar a plataforma nas sessões 2, 3 e 4 (50±4.1; 48±3.7; 49±4.2; respectivamente) em comparação com o grupo CTAP (17±2.8; 17±2.5; 13±2.8). E a estimulação pelo AE resultou em menores latências nas sessões 2, 3 e 4 nos animais HIAE (36±3.9; 34.9±5.4 e 35 ±4.4) em relação aos HIAP. Estes resultados indicam que a HI neonatal resulta em déficit na memória de trabalho no período da adolescência em ratos de ambos os sexos e que o enriquecimento ambiental mantido no período neonatal é capaz de reverter este déficit apenas em fêmeas.

POS 14-10

Caracterização dos neurônios envolvidos na ventilação pulmonar do molusco *Megalobulimus abreviatus*. Denise M. Zancan, Denise F. de Oliveira, Luciano S. de Fraga, Wania Partata, Matilde Achaval. Lab. Neurobiologia, Deptos. de Fisiologia e C. Morfológicas, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

O objetivo deste trabalho originou-se da necessidade em compreender o controle da atividade respiratória do caracol terrestre *Megalobulimus abbreviatus*, modelo experimental em várias abordagens neurobiológicas. Este trabalho buscou a identificação e a caracterização química dos neurônios do sistema nervoso central envolvidos na inervação do pneumóstoma. A organização neuroanatômica deste orifício contrátil respiratório foi investigada com a utilização das técnicas histoquímicas acetilcolinesterase (AChE, Karnovsky e Roots, 1964) e ácido glioxílico (De La Torre e Surgeon, 1976) e imunoistoquímica de FMRFamida, importante neuropeptídeo periférico nos moluscos. Para a identificação dos neurônios ganglionares que inervam o pneumóstoma foi utilizado marcação retrógrada do nervo parietal posterior (nPd) com $CoCl_2$ e anterógrada com biocitina. Foi realizada uma comparação entre os neurônios centrais marcados com o traçador e os identificados com tirosina hidroxilase imunorreativa (TH-ir), serotonina imunorreativa (5HT-ir) e FMRFamida-ir. Foram encontrados neurônios marcados retrogradamente nos gânglios pedais, pleural direito, parietal direito (em maior número) e visceral. A marcação anterógrada revelou constituição mista para o nPd, o qual se ramifica em um extenso plexo sensorial dopaminérgico e FMRFamida-ir no pneumóstoma. As terminações axonais na musculatura do pneumóstoma mostraram ser 5HT-ir e FMRFamida-ir. A atividade AChE da inervação de toda a região do pneumóstoma facilitou a descrição do padrão de inervação periférico. As análises comparativas neuronais mostraram que a FMRFamida e a serotonina parecem participar da regulação motora do pneumóstoma, e a dopamina deve ter principalmente função sensorial, responsável pela inervação do tegumento do pneumóstoma. CAPES, CNPq, FAPERGS.

POS 14-11

Mechanical determinats of the Respiratory Sinus Arrhythmia. Eduardo R. Migliaro[1], Juan G. Barra[2], María Victoria Brando[1], Paola Contreras[1], Valentina Agorrody[1]. [1]Depto. de Fisiología, Fac. Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay; [2]Depto. de Ciencias Fisiológicas, Universidad Favaloro, Buenos Aires, Argentina.

It was long recognized that respiration induces variations in heart rate that were called respiratory sinus arrhythmia (RSA). RSA is strongly related to the vagal drive and it is responsible for the subtle variations in beat to beat intervals along with respiratory cycle. Nevertheless, the neural control is not the only determinant of RSA, as it is reduced but not abolished in transplanted hearts, and experimental autonomic blockade. We hypothesize that despite the influence of the autonomic drive in RSA, the mechanical effects of respiration and blood flow over the atrial stretch are decisive for such behavior. The real role of the vagus nerve could be to modify the basal length of the intervals and give support to the mechanical induced variations. Longer intervals yield wider variations of heart rate (HR) and viceversa. We tested our hypothesis in to preparations. 1) Anesthetized sheep: Right atrial pressure, ECG and respiration were recorded. Two experiments were conducted in control conditions and after autonomic blockade (propranolol 40mg/kg, atropine 1mg/kg). In control conditions HR fluctuates synchronically with respiration, spectral analysis shows a good correlation between both variables. Under autonomic blockade the relationship between respiration and HR was dramatically increased and spectral profiles are almost identical. 2) Isolated (Langendorff) Guinea pig heart: Coronary perfused hearts were allowed to beat spontaneously and placed into a glass chamber filled with saline solution (35ºC). In five experiments reduction of pressure into the chamber increases HR ($p<0.05$) and increases variability. Both experiments support the conclusion that a mechanical response of the sinoatrial

node must be involved in RSA and the autonomic drive could act as "modulator" of such response

POS 14-12

Tumour necrosis factor-α modifies cat carotid body chemosensory activity *in vitro*. Ricardo Fernández[1], Paula Cortés[1], Kevin Maisey[2], Felipe Simon[1,3], Sergio Rey[4], Pablo Reyes[5], Patricio Zapata[5]. [1]Fac. de Ciencias de la Salud, Universidad Andrés Bello. [2]Fac. de Química y Biología, Universidad de Santiago de Chile. [3]Centro de Estudios Moleculares de la Célula, Fac. de Medicina, Universidad de Chile. [4]Fac. de Medicina, P. Universidad Católica de Chile. [5]Fac. de Medicina, Universidad del Desarrollo. Santiago, Chile.

Carotid body (CB) develops acute inflammation by lipopolysaccharide (LPS) either applied topically or infused I.V. CB inflammation manifest itself by diminished chemoreceptor activity, ventilatory chemoreflexes and pulmonary ventilatory chemosensory drive. Since the reduction in CB chemoreceptor activity *in situ* is not due to glomus cells death, and I.V. LPS increases plasma levels of tumour necrosis factor-α (TNF-α), we tested the hypothesis that TNF-α would affect CB chemosensory activity. Carotid bifurcations obtained from sodium pentobarbitone anaesthetized cats were simultaneously perfused and superfused *in vitro* with Tyrode's solution (pH 7.4 at 37.5ºC), containing 5% CO_2. The frequency of chemosensory discharges (f_χ) was recorded from the whole carotid sinus nerve. TNF-α bolus injections through the perfusion line failed to evoke changes in basal f_χ recorded during normoxia, but when applied upon a hypoxic background, evoked a dose-dependent transient fall in the increased levels of f_χ observed in that condition. Immunohistochemical (IHC) studies showed that glomus cells displayed strong TNF-α immunoreactivity, mainly in the cytoplasm. IHC and RT-PCR studies determined that cat CBs express both type-1 and type-2 TNF-α receptors. Our results support the idea that local and/or systemic TNF-α production diminishes CB chemosensory activity *in vitro*, and may participate in the depression of chemoreceptor activity and ventilatory chemoreflexes induced by LPS in the entire animal. Supported by UNAB DI 60-04 (RF), UNAB DI 32-04 (FS), and FONDECYT 1010951 (PZ).

POS 14-13

La hipoxia fetal crónica por gestacion parcial en grandes altitudes modifica la respuesta cardiovascular a la hipoxia aguda en fetos de oveja. [1]Germán Ebensperger, [1,3]Emilio A. Herrera, [2]Raquel A. Riquelme, [1]Paola A. Amador, [4]Julian T. Parer, [1,3,5]Aníbal J. Llanos. [1]Lab. Fisiología y Fisiopatología del Desarrollo, ICBM, Facultad de Medicina; [2]Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas; [3]INCAS; Universidad de Chile, Chile. [4]University of San Francisco California, EEUU, [5]Universidad de Tarapacá, Chile.

Varias enfermedades cardiovasculares y metabólicas en el adulto podrían tener un origen fetal. Es así que factores como la malnutrición materna durante el embarazo tienen una repercusión en el feto. Postulamos que la hipoxia fetal crónica también podría determinar patologías en el recién nacido y en el adulto. Así, neonatos originarios de grandes altitudes presentan una hipertensión pulmonar (Herrera y cols., 2003) **Hipótesis:** La gestación parcial en grandes altitudes modifica la respuesta cardiovascular a un episodio de hipoxia sobreagregada en el feto de oveja. **Objetivo:** Determinar variables cardiovasculares en fetos de oveja que han cursado el 70 % final de su gestación a 3600 m, en condiciones basales y en hipoxia aguda. **Resultados:** La frecuencia cardiaca de los fetos gestados parcialmente a 3600 m (TBTA) aumenta durante la hipoxia aguda, sin presentar una bradicardia inicial como ocurre en los fetos de tierras bajas. El flujo sanguíneo carotídeo es mayor basalmente en los fetos de tierras altas y no presenta cambios durante hipoxia aguda, a diferencia de los fetos de tierras bajas que aumentanel flujo carotídeo. **Conclusiones:** La restricción intrauterina de oxígeno en los últimos 2/3 de gestación, modifica el *status* cardiovascular basal así como la respuesta a un episodio de hipoxia aguda. Esta condición intrauterina podría determinar cambios fisiopatológicos que se podrían evidenciar como patologías en la etapa postnatal. *Wellcome Trust CRIG 072256, Fondecyt 1050479*

***POS* 14-14**

Hypoxia downregulates L-arginine/nitric oxide pathway by repressing the carbon monoxide/heme oxygenase system in human umbilical vein endothelial cells. [1,3]Victoria Gallardo, [1,2]Carlos Puebla, [2]Luis Sobrevia, [1]Paola Casanello. [1]Perinatology Research Laboratory (PRL) and [2]Cellular and Molecular Physiology Laboratory (CMPL), Department of Obstetrics and Gynecology, Medical Research Centre (CIM), School of Medicine, Pontificia Universidad Católica de Chile. [3]Department of Physiology, Faculty of Biological Sciences, Universidad de Concepcion, Chile.

L-Arginine/nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO)/heme oxigenase (HO) systems are physiological regulators of the umbilico-placental circulation. Hypoxia decreases L-arginine/NO pathway activity in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC); however, controversial effects on the expression of HO-1 have been reported. We determined the effect of hypoxia on HO-1 expression and estimated whether the CO/HO pathway is involved in the hypoxia-induced downregulation of L-arginine/NO pathway in HUVEC. Cells were exposed to normoxia (5% O_2) or hypoxia (2% O_2) and L-[^{3}H]arginine transport and NO synthase (NOS) activity were measured in absence or presence of protoporphyrin IX (ZnPPIX, HO inhibitor). Total and phosphorylated eNOS and HO-1 mRNA and proteins were quantified by RT-PCR and Western blot, respectively. L-Arginine uptake was initially stimulated by ZnPPIX while further exposure resulted in a time- and

concentration-dependent inhibition under normoxia. However, ZnPPIX did not alter hypoxia-decreased L-arginine uptake. Basal HO-1 protein and mRNA levels were barely detected, but upregulated by ZnPPIX either in normoxia or hypoxia, an effect that was blunted in hypoxia. Hypoxia and ZnPPIX increased total eNOS protein abundance, but decreased phosphorylated/total eNOS ratio. Thus, CO/HO system could modulate NO synthesis in HUVEC. We suggest that L-arginine/NO pathway activity is decreased due to HO-1 repression under hypoxia. Supported by FONDECYT 1030607 and 1030781 (Chile).

POS 14-15

SILDENAFIL REVERSES THE PULMONARY HYPERTENSION IN HIGHLAND NEWBORN SHEEP. [a,c]EA Herrera, [a]G Ebensperger, [b]RA Riquelme, [a]BJ Krause, [a,c,d]AJ Llanos. [a]Facultad Medicina, [b]Facultad Químicas-Farmacéuticas, [c]International Center for Andean Studies (INCAS), Universidad de Chile, [d]Universidad de Tarapacá, Chile.

The newborn sheep (NB) develops pulmonary hypertension (PHT) in the Andean *altiplano*, both in basal conditions and during a superimposed episode of hypoxia. The pulmonary nitric oxide activity in these animals is enhanced, but the soluble guanylyl cyclase is decreased when compared to lowland lambs. We hypothesize that an increase in phosphodiesterase type 5 (PDE5) activity is determining in part the PHT at high altitude; therefore we study the PDE5 blockade with the administration of sildenafil, a phosphodiesterase type 5 inhibitor. Methods: Under ketamine-xylacine anesthesia 5 highlands newborn (INCAS, 3600 m), between 4-6 days old, were catheterized in femoral artery and pulmonary artery (PA) (Swan Ganz). At least three days after, we measured PA pressure (PAP), systemic arterial pressure (SAP), heart rate (HR) and cardiac output (CO) during a 3 h protocol (1h basal, 1h hypoxia, 1h recovery) with or without a sildenafil infusion. Results: The NB showed basal pulmonary hypertension, which was partially reverted with the sildenafil infusion. Moreover, during a superimposed hypoxic episode, there was no increase in the PAP. SAP presented a slight decrease during the sildenafil infusion in basal conditions, with no changes during hypoxia. Concomitant with this, there was a compensatory increased in HR. In both group the CO increased in the hypoxic period returning to basal values in recovery. Conclusions: The NB at high altitude develops a marked pulmonary hypertension during acute hypoxia, which is totally reverted with sildenafil. Sildenafil, a phosphodiesterase type 5 inhibitor, may be a useful treatment in the pulmonary hypoxic hypertension in the newborn. *Supported by FONDECYT 1050479(Chile); The Wellcome Trust CRIG 072256(UK); Beca PG/54/2005 Depto de Postgrado y Postítulo-U. de Chile*.

POS 14-16

Pharmacological characterization of α1-adrenergic receptors expressed in femoral arteries from high altitude newborn sheep. [a]BJ Krause, [e] C Torres-Farfan, [a,c]EA Herrera, [a]G Ebensperger, [d]G Cabello [a,c,d]AJ Llanos. [a]Facultad Medicina Universidad de Chile, [b]Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Universidad de Chile, [c]INCAS Universidad de Chile, [d]Universidad de Tarapacá, Chile; [e]Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.

Chronic hypoxia *in utero* induces an increase in the femoral vascular contraction to noradrenaline (NA) in newborns of lowland species. In chronically hypoxic fetal sheep, there is an increase in α-adrenergic tone, since α-adrenergic blockade with phentolamine induces cardiovascular collapse and death. We hypothesize that the increased adrenergic-induced contraction in femoral arteries is maintained after birth in chronically hypoxic newborn sheep, by the over expression of high affinity α_1-adrenergic receptors. **METHODS.** Utilizing wire myography we determined the response to K^+ and noradrenaline (NA), in third to fourth generation of femoral arteries, from 6 newborn sheep at sea level (LA NBS), and 4 NBS whose pregnancy took place at 4,600m above sea level (HA NBS). Maximal response (Rmax) and sensitivity to contractile agents were obtained by fitting the responses to the Boltzmann function. The α_1-adrenergic receptors were characterized through the effects of different concentration of prazosin (α_1-adrenergic antagonist) on the NA sensitivity and Schild analysis. **RESULTS.** Rmax to K was lower in HA newborn sheep without differences in sensitivity. Rmax to NA was similar in HA and LA lambs, however, the sensitivity to NA was higher in HA compared to LA sheep neonates. HA NBS had α_1-adrenergic receptor population of high affinity (pA_2 10,81) determined by Schild analysis ($pA_2 > 9.0$), whilst and LA NBS had low affinity α_1-adrenergic receptors (pA_2 8,98). **CONCLUSIONS.** These data support the hypothesis that chronic hypoxia *in utero* promotes the expression of high affinity α1-adrenergic receptor subtypes, explaining the marked femoral vasoconstriction observed during an episode of acute of hypoxia. *FONDECYT 1050479(Chile); The Wellcome Trust CRIG 072256(UK)*.

***POS* 14-17**

Efeito do enriquecimento ambiental precoce sobre a memória de ratos submetidos à hipóxia-isquemia neonatal. Patrícia M. Nabinger, Lenir Orlandi Pereira, Atahualpa C. P. Strapasson, Anderson P. Da Rocha, Carlos Alexandre Netto. FFFCMPA; PPG Neurociências. Depto de Bioquímica, ICBS, UFRGS; Brasil.

Estudos indicam reversão do déficit cognitivo causado pela hipóxia-isquemia neonatal (HI) cerebral em ratos adultos expostos ao ambiente enriquecido (AE) diariamente. O presente estudo objetiva avaliar a memória de ratos na adolescência e na idade adulta. Foram utilizados ratos Wistar, machos e fêmeas, nos grupos: controle, mantidos em ambiente padrão (CTAP,n=23); CT

mantidos em AE (CTAE, 21); HIAP (17) e HIAE (19). No dia 7 pós-natal (PND), os ratos foram submetidos à cirurgia de isquemia, com oclusão permanente da artéria carótida comum direita. Passados 150 min, foram expostos a ambiente hipóxico (90min-8% O_2; 92% N_2). Do PN8 ao PN30, as ninhadas foram mantidas em gaiolas com diferentes níveis contendo brinquedos e objetos. Após, foram submetidos ao labirinto aquático de Morris (LAM) para avaliar a memória de referência. A partir do PN90, os animais foram novamente submetidos ao LAM. A ANOVA indicou, no primeiro período de treino no LAM, um prejuízo na memória de referência resultando em maiores latências nos grupos HI em comparação com os grupos CT, em ambos os sexos, em todos os dias da avaliação ($p<0.01$). A estimulação pelo AE, por outro lado, não resultou em mudanças no comportamento observado. Já na fase adulta, o déficit de memória foi mantido nos animais HI, machos e fêmeas. Ademais, o enriquecimento ambiental reverteu esse déficit somente nas fêmeas; as ratas do grupo HIAE tiveram menores latências no 3° (29±3.8) e 5° dias de treino (32±5.8) em comparação com as ratas do grupo HIAP (44±3.4 e 49±3.1). Os ratos foram, então, sacrificados e seu volume hipocampal analisado. A HI resultou em atrofia hipocampal, a qual não foi revertida pelo AE (CTAP:51±0,9; CTAE:46,3±0,9; HIAP:14,3±1,8; HIAE:23,1±6,6; em mm^3).

POS 14-18

Modificaciones de la función ventilatoria nasal y bronquial, frente al ejercicio en niños sano y con rinitis. Lozano A, Grenat AR, Sasia L, Saranz RJ, Croce JS, Croce VH. Cátedra de Inmunología Fac Medicina, Univ Católica de Cordoba, Argentina.

En este trabajo se compara la respuesta nasal y bronquial al ejercicio en niños con rinitis alérgica respecto a niños sanos. Pacientes y Métodos: se analizaron 17 pacientes con rinitis alérgica (Grupo Ra) y 9 niños sanos (Grupo S). A todos se los expuso al protocolo para el diagn6stico del asma inducido por ejercicio. Se midió la respuesta nasal por rinomanometría anterior y bronquial por espirometría. Todos los registros se levaron a cabo de manera basal y a los minutos 5, 20, 60 Y 120 post ejercicio. Se realizo análisis estadístico de los resultados. Resultados: En el Grupo Ra se registro una caída significativa del VEF1 entre el basal y 5 minutos ($p<0,004$) y entre los 5 y 20 minutos ($p<0,04$). En la rinomanometría se registró en el parámetro presión: el grupo Ra presentó un aumento entre los 20 y 120 minutos ($p<0,05$). Flujo: existieron diferencias entre los grupos a los 5 ($p<0,04$) y 120 minutos ($p<0,03$), el grupo S presentó un aumento del flujo entre el basal y los 5 minutos ($p<0,03$). Resistencia: hubo diferencias significativas entre los grupos en todos los tiempos; en el grupo Ra se registraron diferencias a los 20, 60 Y 120 minutos ($p<0,05$). Conclusión: EI ejercicio compromete la función nasal y bronquial de los pacientes atópicos. La diferencia de la respuesta esta en el tiempo, la función pulmonar se compromete a los 5 minutos y el compromiso nasal se registra desde los 20 minutos. La diferencia en el tiempo de respuesta no se exp!ica desde la fisiopatogenia sino desde la fisiología del órgano.

POS 15
Fisiología y fisiopatología renal
Renal physiology and physiopathology

POS 15-01

Cambios en la actividad de la óxido nítrico sintasa vascular y renal inducidos por el péptido natriurético atrial en ratas espontáneamente hipertensas. Elesgaray, Rosana; Caniffi, Carolina; Burger, Ana; Visintini, Florencia; Finella, Sebastián; Balaszczuk, Ana; Arranz, Cristina; Costa, Angeles, Cát. de Fisiología, Fac. de Farm. y Bioq, UBA, IQUIMEFA-CONICET, Argentina.

El péptido natriurético atrial (ANP) aumenta la actividad de óxido nítrico sintasa (NOS) cardiovascular y renal en ratas normotensas. Objetivo: Investigar los efectos del ANP sobre la NOS en riñón y aorta de SHR. Se determinó en médula y corteza renales y aorta de SHR y controles normotensos (WKY) la actividad NOS (pmolL-[U^{14}C]-citrulina/min.g tej) con L-[U^{14}C]-arginina, luego de agregar: ANP (1μM), cANP(4-23) (agonista específico del receptor NPR-C, 1μM) y/o aminoguanidina (AG, inhibidor de iNOS, NOS inducible, 1μM).Los resultados se expresan como porcentaje de aumento o disminución respecto de la actividad basal de NOS. *p<0.01 vs WKY igual tratamiento, #p<0.01 vs ANP, ^p<0.01 vs cANP.

	AG	ANP	ANP+AG	cANP	cANP+AG
Médula (WKY)	-13.1±1.4%	35.5±5.1%	25.2±3.0%#	19.8±3.0%#	8.8±1.1%^
Médula (SHR)	-18.2±2.1%*	25.9±2.1%*	13.0±1.1%*#	17.9±1.7%#	4.9±1.0%*^
Corteza (WKY)	-9.6±1.6%	43.9±3.4%	32.2±3.1%#	18.6±2.9%#	7.7±1.2%^
Corteza (SHR)	-15.7±2.3%*	30.0±3.9%*	12.9±2.2%*#	17.2±2.8%#	3.0±0.6%*^
Aorta (WKY)	-12.6±1.2%	76.9±11.4%	63.9±5.9%#	18.7±2.5%#	5.6±0.5%^
Aorta (SHR)	-16.5±1.1%*	39.9±5.8%*	23.2±2.8%*#	19.5±2.0%#	8.1±1.0%*^

El ANP induciría la activación de la iNOS sólo en riñón, y esta activación no se relacionaría con la vía del NPR-C. La estimulación de NOS por ANP mediada por el NPR-C no estaría alterada en este modelo. La menor activación de NOS inducida por el péptido, vía NPR-A y/o NPR-B, podría deberse a una alteración en los receptores y/o en las vías de señalización involucradas en este modelo.

POS 15-02

B_2 receptor-mediated dual effect of bradykinin on the proximal tubule Na^+-ATPase: Sequential activation of the PI-PLC/ PLA_2 pathways. Libano-Soares, J. D.[1]; Gomes-Quintana, E.[2]; Melo, H. K.[1]; Queiroz-Madeira, E.[2]; Roubach, R. G.[2]; Lopes, A. G.[2]; Caruso-Neves, C[1].- [1]Laboratório de Bioquímica Renal, [2]Laboratório de Fisiologia Renal - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho - UFRJ - Brasil

Introduction: We have shown that bradykinin (BK) has a biphasic effect on the Na^+-ATPase activity. The stimulatory phase is mediated by B_1 receptor while the inhibitory phase is B_2-mediated. The aim of this study was to evaluate the molecular mechanism involved in the B_2-mediated BK effect on the proximal tubule Na^+-ATPase activity. **Methods and Results**: The Na^+-ATPase activity was measured using the Grubmeyer & Penefsky (J Biol Chem 256:3718, 1981) method. The time-course of reaction, in the presence of B_1 antagonist, showed that a short exposure to 10^{-9}M BK stimulated the Na^+-ATPase activity, while longer times inhibited it. BK stimulated PI-PLC (50%), PKC (200%) and PLA_2 (120%) activities, with a maximal effect at 0.5, 3 and 5 min, respectively. The PKC activity was measured by calphostin C (CphC)-sensitive incorporation of ^{32}Pi, using histone as substrate. The addition of HOE140 (a specific antagonist for B_2) and GDPβS (a non-hydrolyzable GDP analog) abolished the effect of BK on the Na^+-ATPase and PLA_2 activities. The same results were observed in the presence of U73122 (a specific inhibitor of PI-PLC), CphC (an inhibitor of PKC) and $PACOCF_3$ (an inhibitor of $iPLA_2$). **Discussion and Conclusion**: These results demonstrate a new mechanism by which BK can modulate renal sodium excretion: the coupling between B_2 receptor and sequential activation of PI-PLC/PKC and $iPLA_2$ pathways. **Financial Support:** PADCT, PRONEX, FINEP, CNPq, FAPERJ, FAPESP, FUJB.

POS 15-03

Cálcio citosólico em células do segmento S3 do túbulo proximal de rim de rato. Priscilla Morethson, Deise Leite-Dellova, Margarida de Mello-Aires. Lab. de Fisiologia Renal, Depto. de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, Brasil.

Trabalho atual de nosso Laboratório está demonstrando que a aldosterona desencadeia respostas genômicas e não-genômicas na regulação do pH celular do segmento S3. Dentre as respostas não-genômicas, está descrito o aumento da concentração de cálcio livre no citosol ($[Ca^{2+}]_i$). Considerando que o rápido aumento da $[Ca^{2+}]_i$ foi apontado recentemente como pré-requisito para a ação genômica do hormônio, possivelmente por desempenhar um papel precoce na cascata de sinalização intracelular, o objetivo do presente trabalho foi a determinação da $[Ca^{2+}]_i$ basal nas células tubulares do segmento S3 para a posterior avaliação do efeito dose-dependente da aldosterona sobre a $[Ca^{2+}]$i nessas células. Ratos Wistar machos (80-110 g), anestesiados intraperitonealmente, foram submetidos a laparotomia para nefrectomia bilateral. Os túbulos proximais foram

microdissecados a partir da papila renal e foram transferidos para placas previamente tratadas com poli-l-lisina. As células foram marcadas com 10μM de Fluo4-Am (25ºC, 5 min), sonda intracelular fluorescente sensível a Ca^{2+}. A medida da fluorescência basal foi feita em microscópio confocal (Zeiss, LSM 510) durante 2 min, na vigência de solução controle. As amostras foram excitadas a 488 nm e a fluorescência emitida acima de 520 nm foi registrada a intervalos de 10 s. A conversão do sinal fluorescente para a $[Ca^{2+}]i$ foi feita por calibração com ionomicina 50 μM + EGTA 2,5 mM na ausência de cálcio extracelular, seguida de ionomicina 50 μM em solução controle, aplicando-se a equação de Grynkiewicz. A $[Ca^{2+}]i$ basal encontrada, sob as condições estudadas, foi de 110 ± 6,79 nM (n = 9). Pode-se concluir que a $[Ca^{2+}]i$ basal nas células tubulares proximais do segmento S3 é semelhante à $[Ca^{2+}]i$ basal de outras células epiteliais, segundo a literatura.

POS 15-04

Interação da angiotensina II (ANG II) e calmodulina sobre a atividade da isoforma 1 do permutador Na^+/H^+ (NHE1), em cultura celular. Débora Mai Nakamura Eguti[1], Margarida de Mello Aires[1] e Maria Oliveira de Souza[1]. [1]Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

A isoforma 1 do permutador Na^+/H^+ (NHE1) é de fundamental importância para a manutenção do pH intracelular (pHi). Por outro lado, a angiotensina II (ANG II) modula a atividade de várias isoformas do permutador Na^+/H^+, por interação com o receptor AT1 e conseqüente ativação da fosfolipase C, diacilglicerol e aumento do cálcio citosólico. Sabendo que o NHE1 apresenta 2 sítios (A- alta afinidade e B- baixa afinidade) para a interação com o complexo cálcio-calmodulina, o objetivo de nosso trabalho é avaliar como a ANG II ao induzir o aumento do cálcio citosólico, pode modular a interação entre o complexo cálcio-calmodulina e o sítio A do NHE1. Em nossos estudos, utilizamos o NHE1 w*ilde type* e um mutante de NHE1, cujo sítio para interação com cálcio-calmodulina foi alterado por substituição de aminoácidos críticos, por reações de PCR. A expressão e atividade do NHE1 são respectivamente avaliadas por medidas de pHi através de microscopia de fluorescência e western blot.

Inicialmente, por reações de PCR, substituímos os aminoácidos lisina (641) e arginina (643, 645 e 647) por ácido glutâmico. Em seguida, clonamos os cDNAs (*wild type* ou mutante) no vetor de expressão pcDNA 3.1 e após seqüenciamento dos DNAs, os recombinantes foram expressos em células PS120 (derivadas de fibroblastos). Os clones positivos para NHE1 *wild type* ou mutante foram selecionados por western blot e avaliação da recuperação do pHi. Os estudos para avaliação funcional estão sendo realizados na vigência de ANG II (10^{-9} ou 10^{-6} M) e/ou W 13 (antagonista do complexo cálcio-calmodulina - 10^{-5} M).

POS 15-05

Effect of aldosterone on bicarbonate reabsorption of proximal convoluted tubule (segment S2) in vivo. P. S. Pergher and M. Mello-Aires. Department of Physiology and Biophysics, Instituto de Ciências Biomédicas, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

Male Wistar rats weighing 200-340 g were anesthetized with Fentanil-Droperidol 2ml/kg ip. The kidney was isolated by a lumbar approach and immobilized in situ by Ringer-Agar in a Lucite cup. During the experiment, the rats received venous saline containing 3% mannitol at 0,05 ml/min. Bicarbonate reabsorption was evaluated by stationary microperfusion of *in vivo* proximal convoluted tubule (PCT, segment S2). The luminal tubular perfusion solution contained (in mM): 100 NaCl, 25 $NaHCO_3$, 5 KCl, 1 $CaCl_2$ and 1.2 $MgSO_4$. Intratubular pH was recorded by double-barreled H ion-exchange resin/reference (1M KCl) microelectrodes for the determination of HCO_3^- reabsorption. The rate of tubular acidification was expressed as the half-time of the reduction of the injected HCO_3^- levels to their stationary level ($t_{1/2}$). Net HCO_3^- reabsorption ($JHCO_3^-$) was calculated from the equation $\{ k ([HCO_3^-]_i - [HCO_3^-]_S) r/2\}$, where k is the rate constant of the reduction of luminal bicarbonate [$k = \ln 2/(t_{1/2})$], r is the tubule radius, and $[HCO_3^-]_i$ and $[HCO_3^-]_S$ are the concentrations of the injected HCO_3^- and HCO_3^- at the stationary level, respectively. In the presence of Aldosterone (10^{-12} M) in the luminal perfusion solution a significant decrease in t/2 was observed [from 4.14 ± 0.455 (29) s to 2.08 ± 0.162 (35) s] with a significant increase in $JHCO_3^-$ [from 2.77 ± 0.283 (29) $nmol.cm^{-2}.s^{-1}$ to 5.12 ± 0.411 (35) $nmol.cm^{-2}.s^{-1}$]. This hormonal effect is instantaneous and suggests a nongenomic pathway. Supported by FAPESP, CNPq and CAPES.

POS 15-06

A suplementação oral de creatina não altera a função renal de ratos. Mayara Rodrigues, Delanie Velazquez, Lázaro da Silva, Ellem Guirra, Abisai Santana, Tiago de Melo, Fernando Queiroz, Lab. de Fisiologia, Fac Adventista de Fisioterapia, Brasil.

A creatina tem sido utilizada como suplemento nutricional entre atletas, na busca por um melhor desempenho. Os dados da literatura sobre os efeitos da suplementação de creatina sobre a função renal têm demonstrado resultados controversos. Este trabalho teve como objetivo estudar o efeito da suplementação de creatina sobre a função e a histologia renal de ratos submetidos a treinamento físico. Foram utilizados 12 ratos Wistar machos, adultos, submetidos à atividade física (grupo controle) ou atividade física e suplementação de creatina (grupo creatina). A atividade física consistiu de natação 30 min/dia, 5 dias/semana. A creatina foi administrada por gavagem 30 min antes da natação durante 4 semanas (0,30 g/kg na primeira semana e 0,05 g/kg nas semanas restantes). Após este período foram medidas as

concentrações séricas e urinárias de Na^+, K^+, albumina, creatinina e uréia, sendo calculadas as respectivas excreções urinárias e as depurações renais de albumina, creatinina e uréia. Os rins foram removidos para análise histológica. Não houve diferença significativa em nenhum dos parâmetros séricos e urinários estudados. As depurações renais dos grupos controle e creatina foram: para creatinina: 216,72±31,47 e 241,86 ± 45,55µL/min/100g, n=8; para albumina: 0,030 ± 0,006 e 0,048 ± 0,009µL/min/100g, n=8. Sendo assim, o ritmo de filtração glomerular, a reabsorção tubular e a permeabilidade glomerular permaneceram inalteradas no grupo creatina. O estudo histológico demonstrou que os glomérulos estavam preservados, o interstício e os vasos não apresentavam alterações em ambos os grupos. Em alguns túbulos coletores, tanto no grupo controle como no grupo creatina, foram encontrados focos de depósitos hialinos. Os resultados sugerem que nem a função nem a histologia renal dos ratos foram alteradas com a suplementação oral de creatina.

POS 15-07

The Effect of Adenosine and its Metabolites on The Na^+- ATPase Activity in LLC-PK_1 Cells.

[1]Wengert, M.; [2]Leão-Ferreira, L. R.; [3]Lopes, A. G.; [4]Caruso-Neves, C. [1,4]Laboratório de Bioquímica Renal, [3]Laboratório de Fisiologia Renal, Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro; [2]Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense. Brasil.

Introduction: It has been proposed that adenosine and ATP modulate important renal functions, such as sodium and water excretion. Moreover, adenosine could be metabolized in renal tissue forming metabolite. The objectives of this study were: 1) evaluate the effect of adenosine on the Na^+- ATPase activity, 2) verify which adenosine receptor could be involved 3) observe the metabolic pattern of ^{3}H-adenosine in LLC-PK_1 cells. **Methods and Results:** The Na^+-ATPase activity was measured according to the method described by Grubmeyer and Penefsky (J.Biol.Chem. 256: 3718, 1981). The metabolism of adenosine was observed using thin layer chromatography. Confluent monolayers of LLC-PK1 cells were incubated with culture medium containing different concentrations of adenosine at 37 ^{0}C, for 30 min. Adenosine stimulated the Na^+-ATPase activity in a dose-dependent manner, reaching the maximal stimulatory effect at 10^{-9} M corresponding to an increase of 73%. A_1 and A_2 antagonists did not reverse the stimulatory effect induced by adenosine. After 30 minutes of the ^{3}H-adenosine addition on the luminal membrane of LLC-PK1 cells, the major metabolites formed were hipoxantine and ATP. **Discussion and Conclusions:** These data indicate that the stimulatory effect of adenosine is not mediated by A_1 and A_2 receptors. In addition, ^{3}H-adenosine is metabolized in LLC-PK_1 cells and probably the stimulatory effect of adenosine is mediated by its metabolites. CAPES, CNPq, FAPERJ, FINEP, FUJB, PADCT, PRONEX

POS 15-08

Modifications in *p*-aminohippurate renal transport in rats with acute biliary obstruction.

Anabel Brandoni*, Silvina Villar*, Naohiko Anzai[#], Hitoshi Endou[#], Adriana M. Torres*. *Farmacología. Fac. Cs. Bioq. y Farm. UNR. CONICET. Argentina. [#]Kyorin University School of Medicine, Tokyo, Japan. Email: adtorres@bioyf.unr.edu.ar

In rats with bile duct obstruction (BDL) we demonstrated an upregulation of the organic anion transporter 1 (OAT1) in basolateral membranes from kidney cortex (Hepatology 43: 1092-1100, 2006). OAT1 is an organic anion/dicarboxylate exchanger that plays a primary role in the tubular secretion of endogenous and exogenous organic anions. The aim of this work was to study in depth the renal organic anion transport system in BDL rats, using *p*-aminohippurate (PAH) as a suitable marker of the OAT1 secretory pathway. Male Wistar rats underwent bile duct ligation. Sham-operated rats served as controls. All studies were carried out 21 hours after surgery. By conventional clearance techniques, PAH renal clearance and the secretory maximum capacity (Tm PAH) were assayed. Kinetic parameters of ^{3}H-PAH uptake in renal basolateral membrane vesicles (BLMV) were determined using the rapid filtration technique. At high doses, an increase in the renal clearance of PAH was observed (mL/min/100g b.w., Sham: 2.87 ± 0.09, n=7; BDL: 3.30 ± 0.15, n=8, $p<0.05$). Tm PAH (ug/min/100 g b.w.) increased in BDL group (n=4) to 475 ± 15 from 395 ± 16 observed in Sham rats (n=4), $p < 0.05$. Maximal uptake for PAH transport in BLMV (Vmax, nmoles/15sec/mg Prot.) was 6.5 ± 0.2, n=3, vs 11.9 ± 0.4, n=3, $p <0.05$ in Sham and BDL respectively. Michaelis-Menten constants for PAH uptake in BLMV were similar in both experimental groups. Moreover, ^{3}H-PAH (5 uM) uptake was measured in S2 cells expressing OAT1, in the absence or in the presence of Bilirubin Ditaurate (BD 100 uM) (24h). BD addition increased ^{3}H-PAH uptake (pmoles/min/mg Protein) from 14.51 ± 0.19 n=7 to 18.00 ± 1.26 n=7, $p <0.05$. The previously observed OAT1 upregulation in BDL rats might lead to the higher elimination of its transported compound, PAH and, this alteration might be mediated by the high circulating levels of bilirubin.

POS 15-09

Efeito do estresse hiperosmótico ou hiposmótico sobre a atividade das enzimas glicose-6-fosfatase e frutose 1,6 bifosfatase em tecidos do caranguejo *Chasmagnathus granulatus*

Ana Lúcia Chittó, Luiz Carlos Kucharski, Roselis S. M. da Silva, Depto. de Fisiologia, ICBS, UFRGS, Porto Alegre-RS, Brasil.

A glicose-6-fosfatase (G6Fase) e a frutose 1,6 bifosfatase (FBFase) são consideradas enzimas-chave da via gliconeogênica em vertebrados. Com o objetivo de determinar o papel da gliconeogênese sobre a aclimatização ao estresse osmótico, foi medida, em brânquias anteriores (BA) e em brânquias posteriores (BP), hepatopâncreas e músculo desse crustáceo, a

atividade da G6Fase e da FBFase após 3 dias de estresse hipo ou hiperosmótico. Caranguejos machos foram mantidos em aquários aerados, com salinidade de 20‰, a 25°C e alimentados por 15 dias com carne bovina. Um grupo foi transferido para um aquário com salinidade de 35‰ (estresse hiperosmótico) e outro, para um aquário a 0‰ (estresse hiposmótico) durante 3 dias. A atividade das enzimas foi avaliada pela medida de fosfato (Chan e Swaninathan, 1986) produzido no ensaio enzimático. A atividade da G6Fase e da FBFase no grupo controle foi mais elevada ($p<0,05$) no hepatopâncreas do que nos outros tecidos. Em BAs, a atividade da G6Fase foi maior que em BPs nos animais do grupo controle. O estresse hiposmótico causou um aumento da atividade da enzima G6Fase somente no músculo. O estresse hiperosmótico causou um aumento da atividade dessa enzima no hepatopâncreas, no músculo e em BP. Entretanto, em BA, o estresse hiperosmótico diminuiu 80% a atividade da G6Fase. Em animais submetidos ao estresse hiperosmótico a atividade da FBFase aumentou cerca de 2 vezes em BP. Porém, no hepatopâncreas a atividade dessa enzima diminuiu 51% após o estresse hiperosmótico. O presente estudo demonstrou o papel da via gliconeogênica durante a aclimatação ao estresse osmótico em diferentes tecidos de *C. granulatus*. Apoio Financeiro: CNPq, FAPERGS.

POS 15-10

Efeito da manipulação neonatal sobre o comportamento de ingestão hídrica e a função renal em ratos. Márcio Vinícius Fagundes Donadio[1], Denizar Alberto da Silva Melo[1], Henrique Bregolin Dias[1], Aldo Bolten Lucion[2], Jarbas Rodrigues de Oliveira[1], Gilberto Luiz Sanvitto[2], 1. Lab. Biofísica Celular e Inflamação, PUCRS, Brasil e 2 Lab. Neuroendocrinologia do Comportamento, Depto de Fisiologia, UFRGS, Brasil.

A manipulação neonatal é um modelo experimental utilizado para avaliar como variações precoces do ambiente do animal ocasionam alterações comportamentais e neuroendócrinas estáveis. O objetivo deste estudo é avaliar o efeito da manipulação neonatal sobre o comportamento de ingestão hídrica e a função renal em ratos. Ratos Wistar foram divididos em 2 grupos: não-manipulados (NM) - não sofreram nenhum tipo de manipulação; e manipulados (M) - manipulados (1 min/dia) durante os 10 primeiros dias de vida. Aos 90 dias os animais foram pesados e colocados em gaiolas metabólicas, durante 24 horas, para mensuração da ingestão hídrica (mL) e do volume urinário (mL). Após os animais foram decapitados, os rins pesados e amostras de soro e urina coletadas. As concentrações séricas e urinárias de creatinina (mg/dL) foram dosadas por espectrofotometria e a taxa de filtração glomerular (mL/min) foi determinada. Os resultados foram comparados através de um teste t de student. Não houve diferença em relação ao peso corporal nos 2 grupos. O grupo M apresentou uma diminuição significativa na ingestão hídrica (NM:25,2±3; M:16,3±2,3), no volume urinário (NM:14,3±2,1; M:9,2± 1,2), na creatinina urinária (NM: 48,8±5,6; M:33,5±4,4) e no peso dos rins direito (NM:1,17±0,04; M:1,05±0,02) e esquerdo (NM:1,13±0,03; M:1,03± 0,02) quando comparado ao grupo NM, $p<0,05$. Os animais M apresentaram um aumento na creatinina sérica em comparação com os NM (NM:0,79±0,02; M:0,90±0,04) e uma diminuição na taxa de filtração glomerular (NM:0,58±0,09; M:0,21±0,01) $p<0,05$. A manipulação neonatal induziu alterações estáveis nos sistemas de regulação do equilíbrio hídrico evidenciadas pela diminuição do comportamento de ingestão hídrica e da função renal em ratos.

POS 15-11

Effect of fasted on renal gluconeogenesis in rats. Luiz Carlos Kucharski, Gabriela M. Cavagni, Matheus P. Jahn, Danielle Kaiser, Roselis S. M. Da Silva, Depto. de Fisiologia, ICBS, Univ. Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

The gluconeogenesis is the glucose synthesis from non-carbohydrates compounds. In the kidneys, this pathway is the most important during long fasted. Thus, the objective was evaluate the effect of different fasted times on gluconeogenesis in cortex and medulla renal and blood glucose levels. For this purpose, male Wistar rats of 250g were used. The animals were housed and cared for a compliance with Brazilian Principles of Laboratory Animal Care. The animals were divide in groups and submitted for 24, 48 and 72 hours of fasted. Animals were killed by cervical dislocation and kidneys were immediately dissected out. The renal cortex and medulla were separately and after incubated in 1ml of medium containing ^{14}C-lactic acid plus physiological solution. Incubations were carried out in a Dubnoff metabolic shaker. The ^{14}C-glucose release from the tissues was evaluated by chromatography technique and expressed as μmoles/g tissue/hour. The blood glucose levels were determined by the glucose oxidase method. The assay for incubation time (30, 60 and 120 min) was showed a significantly increase in medullar gluconeogenesis at 60 min. In assay for substrate concentration was used unlabeled lactic acid with 2.5, 5, 10, 20 and 40 mM of concentration. In this assay was verified that gluconeogenic activity increased according to the concentration of lactic acid. The values of fasted groups showed that glucose release was increasing follow the fasted times. In renal cortex the gluconeogenic activity is increasing ($p<0.05$) in 72 hours of fasted (125.83±45.28) in relation to the control group (62.22±24.03) and 24 hours (76.6±35.95). In renal medulla was not observed any significantly difference between experimental groups of fasted. The renal cortex show values 55% higher than renal medulla in the control group, 85% in 24 hours and approximately 100% in 72 hours. The blood glucose levels were showed non-significant difference for all groups. These data can support the participation the renal gluconeogenesis in glycemia maintenance during prolonged fasted, in specially, the role of renal cortex. And show the capacity of

gluconeogenic activity in the renal medulla.

POS 15-12

Genomic and nongenomic effects of aldosterone on cell pH regulation in proximal S3 segment of rat kidney. Deise Leite-Dellova, Gerhard Malnic and Margarida Mello-Aires, Department Physiology and Biophysics, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

The purpose of this work was to investigate the effects of Aldosterone on the mechanisms of cellular pH recovery in proximal S3 segment of rat (Wistar, 90 g) *in vitro*, following intracellular acidification by NH_4Cl. pHi was measured by fluorescence microscopy using the probe BCECF, during superfusion with NaCl Ringer or Na^+-free solution. Our data show that the mean baseline pHi was 7.14 ± 0.008 (82). In the presence of NaCl Ringer, the pH recovery rate (pHi/min) in the control situation was 0.175 ± 0.011 (11); plus Aldosterone (10^{-12} or 10^{-6} M) with 1 h preincubation it increased to 0.275 ± 0.014 (7) or decreased to 0.107 ± 0.025 (5) and with 15 min preincubation it increased to 0.226 ± 0.011 (5) or decreased to 0.104 ± 0.010 (5), respectively. In the presence of Na^+-free medium, the pH recovery rate (pHi/min) in the control situation was 0.06 ± 0.005 (9); plus Aldosterone (10^{-12} or 10^{-6} M) with 1 h preincubation it increased to 0.127 ± 0.013 (8) or to 0.093 ± 0.008 (8) pH and with 15 min preincubation it increased to 0.092 ± 0.013 (6) or to 0.101 ± 0.012 (6), respectively. Spironolactone (10 uM), Actinomycin D (10 uM) or Cycloheximide (40 mM) inhibted the effects of Aldosterone 1 h preincubation but did not affect the effects of Aldosterone 15 min preincubation. Our results indicate that in the proximal S3 segment Aldosterone has a dose-dependent biphasic (stimilatory/inhibitory) effect on the the Na^+/H^+ exchanger and a stimulatory effect on the Na^+-independent mechanism (H+-ATPase) via a genomic (1 h) and nongenomic (15 min) pathway. Supported by FAPESP and CNPq.

POS 15-13

Effects of uroguanylin and renoguanylin on bicarbonate transport in renal tubules. Lessa L.M.A, Amorim, J. B. O., Aziz, R. M., Malnic, G., Fonteles, M. C.

Uroguanylin (UGN) and renoguanylin (REN) are peptides that promote diuresis, kaliuresis and natriuresis. UGN is mostly expressed in small intestine, and REN is highly expressed in kidney tissues. In the present work we evaluate the effects of these peptides on renal tubule acidification by stationary microperfusion methods. A proximal tubule was punctured by a double barrelled micropipette, with one barrel containig Ringer solution plus 25mM$NaHCO_3$ colored with FDC-green. The other barrel contained castor oil. A double microecletrode with H^+ ion-selective resin/reference was used to puncture tubule segments to measure intratubule pH and transepithelial potential. After a control perfusion, the punctured tubule was perfused by Ringer solution with 10^{-6}M UGN, 10^{-6}M REN or 10^{-5}M REN. By the analysis of bicarbonate reabsorption ($JHCO_3^-$, nmol.cm^{-2}.s^{-1}) we observed that 10^{-6}M UGN reduced the JHCO3 in proximal tubules ($2,4\pm0,26_{control}$ vs. $1,56\pm0,21_{UGN}$ ($P<0,05$)) and in distal tubules ($1,33\pm0,19_{control}$ vs. $0,72\pm0,1_{UGN}$ ($P<0,05$). In the group treated with 10^{-6}M REN bicarbonate reabsorption was reduced in distal tubules ($0,80\pm0,07_{control}$ x $0,60\pm0,06_{RENa}$ ($P.<0,05$)), but in proximal tubules we did not observe a significant effect ($1,42\pm0,15_{control}$ x $1,29\pm0,11_{RENa}$ ($P.<0,05$)). However when we used 10^{-5}M REN JHCO3 was reduced significantly in proximal tubules ($1,81\pm0,22_{control}$ x $1,15\pm0,13_{REN\ b}$ ($P<0,05$)). Therefore, both UGN and REN reduced bicarbonate reabsorption either in proximal or in distal tubules. In proximal tubules UGN was more potent than REN, since 10^{-6}M REN did not have a significant effect on these segments. However, in distal tubule 10^{-6}M REN was effective reducing JHCO3, which suggests a higher sensitivity of H^+-ATPase, the main acidification mechanism of these segments, than Na+/H exchanger to REN.

POS 15-14

ROL DE LA ALDOSTERONA EN LA HOMEOSTASIS DEL K^+ EN LA INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA (IRC). Nesmo Yeyati, Marisa Giménez, Myriam.Mac Laughlin. Depto Fisiología.y Biofísica. Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

En la IRC la carga excretada de K^+ està significativamente aumentada en las nefronas remanentes. En estudios previos encontramos en pacientes en IRC niveles normales de aldosterona plasmática. El objetivo del presente trabajo fué profundizar el estudio del rol de la aldosterona en la IRC. Estudiamos el efecto de un bloqueante análogo de la misma (Espironolactona, E) administrado por gavage (10 mg/kg peso/dìa durante 7 dìas) sobre la excreciòn de K^+ en ratas con IRC (remoción de 5/6 de la masas renal). A los 4 meses de la operación la creatininemia fuè; Sham=0.42±0.03 (11) e IRC=2.53±0.27 (12) mg/dl ($p<0.01$) y la presión arterial media; 105±8 (11) y 149±10 (12) mmHg ($p<0.01$), respectivamente. La carga excretada de K^+ (μEq/min) en ambos grupos, en estado basal (B) y después de la espironolactona fue:

	Sham		IRC
Basal	Espironolactona	Basal	Espironolactona
0.950±0.088 (11)	1.045±0.050 (11)	1.795□0.011 (12)	1.294±0.092 (12)*

Media ±SEM;(nùmero de ratas), * $p<0.01$ vs basal.

El K^+ plasmático (mEq/l) en B y E fue: Sham = 4.77 ±. 0.26 y 4.89 ± 0.43(NS), IRC= 5.32 ± 0.25 y 5.91 ± 0.31 ($p< 0.01$) .Aldosterona plasmática (pg/ml):Sham:1746 ± 191, (11); IRC:1615 ± 113, (12) (NS). La espironolactona tuvo un marcado efecto antikaliurètico en las ratas IRC no atribuìble a una modificación de la aldosterona plasmática. Existirìa un mecanismo no ligado, directamente, a niveles de esta hormona, aunque si, probablemente, a algún factor dependiente de su efecto sobre los receptores aldosterónicos de la nefrona. Este mecanismo

contribuiría al mantenimiento de la homeostasis del K^+ en la IRC.

POS 15-15

Modelo de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) en ratas. Federico Ochoa[1], Néstor Lago[2], Claudio Mirabelli[3], Cristina Ibarra[1], Elsa Zotta[1]. 1 Fisiopatogenia, Depto de Fisiología. Fac de Medicina, UBA, Argentina; 2. Depto de Patología. Fac de Medicina, UBA, Argentina; 3. Gemabiotech, Buenos Aires, Argentina

En Argentina, el SUH es la causa más frecuente de Insuficiencia Renal Aguda (IRA) en niños menores de 5 años varios días después de un cuadro de diarrea sanguinolenta. Es causado por bacterias *E. coli* que producen Toxinas Shiga (Stx1 y Stx2). El 30% de los pacientes pasan a la cronicidad. Ratas inoculadas por vía intraperitoneal con sobrenadante de cultivo de bacterias *E Coli* recombinates productoras de Stx2 (240 ng Stx2/3mL) desarrollaron un cuadro de IRA con oliguria a partir de las 48 horas (13 ± 3 vs 19 ± 2 mL/d), con clearance de creatinina de 0,10 ± 0,02 vs 1,1 ± 0,2 mL/min. Histológicamente se encontró necrosis a nivel glomerular y tubular. En sangre se observó esquistocitos y disminución de plaquetas y en el sedimento urinario abundante cantidad de células tubulares descamadas y cristales. Macroscópicamente, el colon presentó distensión y acumulación de líquido claro endoluminal, reflejado en un cuadro de diarrea acuosa. Estudios de inmunohistoquímica revelaron la presencia Stx2 en membrana basolateral de túbulos renales y en glomérulos, así como también en el tercio inferior de las criptas colónicas. Los túbulos proximales con necrosis expresaron factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β1) en membrana basolateral, estando ausente en glomérulos. Los resultados sugieren que el sobrenadante de cultivo de bacterias *E Coli* recombinates productoras de Stx2 induce un cuadro de SUH, a partir del ingreso de la toxina al torrente sanguíneo por vía intraperitoneal. Además los túbulos renales necróticos podrían estar ingresando en una etapa de regeneración temprana balanceada por la presencia del TGF- β1. El haber obtenido este modelo de SUH en ratas, nos permitirá estudiar los factores relacionados con la evolución a una insuficiencia renal crónica (IRC), ayudando a su diagnóstico precoz y/o bloquear su desarrollo con inhibidores específicos

POS 15-16

Interacción Angiotensina II y Dopamina a nivel renal: Receptores y señales intracelulares. Marcelo R. Choi, Vanesa del Valle Turco, Marisa R. Citarella, Fernándo Aprile García, Alicia H. Correa, Belisario E. Fernández, Cátedra de Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, CONICET, Argentina.

Demostramos que la angiotensina II (ANG) disminuye, a los 30 minutos y en forma concentración dependiente, la captación in vitro de ^{3}H-Dopamina (DA) en cortes de corteza renal externa de ratas Sprague Dawley. Se caracterizó la captación como extraneuronal (hidrocortisona sensible) y temperatura dependiente. El objetivo fue determinar el tipo de receptor y los mensajeros implicados. El receptor involucrado fue el AT_1 pues el losartan (Los) 10 μM inhibió los efectos del péptido (n=4-10): C:9.90 ±0.42, ANG II: 7.41±0.21*, Los: 9.48±0.63, ANG + Los: 10.07 ± 0.21. Se descartó al receptor AT_2 pues el PD 123319 1 μM (PD) no bloqueo el efecto de la ANG II (n=4-10): C: 9.67±0.42, ANG II: 7.62±0.23*, PD: 9.78±0.76, ANG II + PD: 6.25±0.38*. El SQ 22536 (SQ) 100 μM (inhibidor de la adenilatociclasa, AC) no modifico los efectos del péptido sobre la captación renal de DA (n=6-9): C: 10.34±0.19, ANG II: 7.41±0.21*, SQ: 9.85±0.77, ANG II + SQ: 7.79±0.27*, mientras que el U 73122 (U) 25 μM (inhibidor de la fosfolipasa C, PLC) fue capaz de bloquearlos (n=7-18): C: 10.34±0.37, ANG II: 7.41±0.21*, U: 10.04±0.46, ANG II + U: 9.72±0.51. El chelerytrine (Che) 10 μM (inhibidor de la PKC) revirtió los efectos del péptido (n=5-7): C:10.34±1.03, ANG II: 7.41±0.21*, Che: 11.21±0.72, ANG II + Che: 10.00±0.79, mientras que el H89 100 μM (inhibidor de la PKA) no los alteró (n=7-15): C:10.34±0.36, ANG II: 7.41±0.21*, H89: 10.05±0.37, ANG II + H89: 7.35±0.5. *: $p<0.05$ (Student t-test, ANOVA, test de Tukey). Los resultados muestran que el efecto de la ANG II sobre la captación renal de DA se produce a través del receptor AT_1 y la vía de señalización implica a la PLC y PKC, descartándose la participación del receptor AT_2 y la vía AC y PKA.

POS 15-17

Los efectos del Urodilatin sobre la captación renal de Dopamina son mediados por el GMPc particulado y la PKG. Marisa Citarella, Vanesa Turco, Marcelo Choi, Fernando Aprile Garcia, Alicia Correa, Belisario Fernández. Cátedra de Fisiopatología, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, CONICET.

Demostramos que el Péptido Natriurético endógeno renal Urodilatin (URO) aumenta la captación de Dopamina (DA), en corteza y médula renales. Dichos efectos se producen por estimulación de los receptores biológicos tipo NPR-A, incrementando como el ANF el contenido endógeno renal y la disponibilidad de la amina. Estudiamos *in vitro* los mecanismos y cascadas intracelulares que participan en las acciones del URO sobre el sistema dopaminérgico renal en cortes de corteza externa de ratas Sprague Dawley. El mensajero involucrado es el GMPc pues el análogo 8BrGMPc reprodujo los efectos del URO (dpm/g.10^5±ESM, n=7-15) (Control (C) 4.44±0.09; 10 nM URO 5.94±.0.27*; 25 μM 8BrGMPc 5.66±0.27*; URO+8BrGMPc 6.91±0.22*), que se bloquearon con azul de metileno (AM), inhibidor inespecífico de la Guanilato Ciclasa (GC) (C 4.45±0.09; URO 5.91±0.23*; 10 μM AM 3.67±0.26; URO+AM 3.78±0.20). Se utilizó Forbol-12-Miristato-13-Acetato (PMA) como inhibidor selectivo de la GC particulada y revirtió los efectos del URO (C 4.44±0.09; URO 5.90±0.25*; 1 μM PMA 3.86±0.29; URO+PMA

4.24±0.17). En cambio el ODQ (inhibidor selectivo de la GC soluble) no produjo efectos *per se* ni alteró la respuesta al URO (C 4.46±0.08; URO 5.87±0.19*; 10 μM ODQ 3.93±0.18; URO+ODQ 5.83±0.40*). La protein kinasa involucrada es la PKG ya que su inhibidor KT 5823, inhibió los efectos del URO sobre la captación renal de DA (C 4.45±0.09; URO 5.92±0.24*; 1 μM KT 5823 4.45±3.30; URO+KT 5823 4.45±2.08). *:P<0.05 vs C. Conclusiones: Parte de los efectos natriuréticos del URO se deben al incremento de la captación renal de DA a través de los receptores NPR-A, posibilitando el aumento de la disponibilidad de la DA renal, efectos que son mediados por el GMPc particulado y la PKG, descartándose la participación de la via del Oxido Nítrico y la GC soluble.

POS 15-18

Regulación de la captación de dopamina y la actividad de la Na+,K+-ATPasa renales por péptidos vasoactivos. Alicia H.Correa, Marcelo Choi, Marisa R Citarella, Mariela Gironacci, Belisario E Fernandez. Cátedras de Fisiopatología y Química Biológica I, Facultad de Farmacia y Bioquímica. U.B.A.

La reabsorción renal de sodio y la natriuresis son procesos regulados por un gran número de sustancias que utilizan como vía común final a la bomba Na+K+-ATPasa, controlada por la dopamina renal (DA) a través de receptores DA_1.Demostramos en corteza renal externa de ratas Sprague Dawley que los péptidos vasoactivos natriuréticos (ANF y Urodilatin, URO) o antinatriuréticos (Angiotensina II (ANGII) regulan la captación renal de DA y secundariamente modifican la actividad de la bomba. Utilizando el mismo modelo experimental estudiamos: 1) La actividad antagónica y/o sinérgica de estos péptidos sobre la captación renal de ^{3}HDA(dpm/g±ESM); 2) La actividad específica de la Na+,K+-ATPasa (μmoles/mg prot/min±ESM): Resultados: 1a) Efecto sinérgico entre ANF y URO (n=7-15): C:4.31 ±0.06, ANF:5.23±0.08*, URO:6.15±0.25*, ANF+URO:6.49±0.5**vs ANF/URO; 1b) Efecto antagónico entre ANG II y URO (n=8-15): C:4.31±0.06, ANG II:3.56±0.07*, URO:6.15±0.25* ANG II+URO: 4.55±0.25 **vs ANG II/URO y entre ANG II y ANF: C:4.31±0.06, ANF: 5.05±0.06*, ANG II:3.38±0.14*, ANG II +ANF:4.48+0.23**vs ANF/ANG II. *p<0.05vs C. 2) Para determinar el efecto de la DA captada sobre la bomba se trabajó en presencia de los péptidos y de carbidopa 100μM (inhibidor de la síntesis de DA) y se verificó si el proceso era inhibido por 100μM de Hidrocortisona (inhibidor de la captación extraneuronal), n=6-8: C (%±ESM a.e.): 100; carbidopa: 155±15*, DA 1uM: 122±10*, ANF: 125±12*, HC: 155±13*, ANG II+DA:200±15*, ANF+DA:63±5, ANF+HC+DA: 161±13*; *p<0.05 vs ANF+DA. (Student t-test, ANOVA, test de Tukey). Conclusiones: Se comprobó un sinergismo entre ANF y URO y antagonismo con ANG II sobre la captación renal de DA, efectos que se extienden a la regulación de la actividad específica de la Na+,K+-ATPasa por la DA. captada.

POS 15-19

Efecto de la adaptación a la alcalosis sobre el crecimiento celular en células de túbulo colector renal. Valeria Rivarola, Paula Ford, Claudia Capurro Lab. Biomembranas, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina.

Los túbulos colectores corticales del riñón de mamífero (CCD) juegan un papel central en la regulación del transporte de agua-solutos y en el mantenimiento del equilibrio ácido-base del organismo. Recientemente demostramos que la línea celular $RCCD_1$, un modelo de CCD, es capaz de adaptarse a una alcalosis crónica, pero no a una aguda, aumentando la expresión de la isoforma AE2 del intercambiador Cl^-/HCO_3^-. Nuestro siguiente objetivo fue determinar el efecto de la alcalosis en el crecimiento celular, ya sea en el número de células o en el tamaño de las mismas. Para evaluarlo adaptamos células, en diferentes grados de confluencia, a una situación de alcalosis de 0 a 4 días. El número de células se evaluó utilizando un hemancitómetro y el tamaño de las mismas mediante el análisis de imágenes de microscopía óptica. Nuestro resultados muestran que luego de 24 horas de exposición a la alcalosis, las células en confluencia disminuían significativamente su número (alcali= 349417 ± 6520 vs control= 405625 ± 21227, $p< 0.05$, n=21) mientras que en las células subconfluentes la reducción ocurre recién a las 48 horas de tratamiento (alcali= 57233 ± 3823 vs control= 80607 ± 7050, $p< 0.01$, n=28). Por otra parte, observamos que en estos últimos el área celular era significativamente mayor en las células adaptadas a la alcalosis (μm^2: alcali = 821.3 ± 50.09 vs control= 559.5 ± 47.85, $p< 0.01$, n=8). Estos resultados permiten concluir que, en las células $RCCD_1$, la exposición a la alcalosis disminuye el número de células pero aumenta su tamaño. Ésta respuesta aparece más rápidamente en células confluentes, lo cual podría relacionarse con el estado de desarrollo del epitelio.

POS 15-20

Mediadores de inflamación luego de isquemia-reperfusión (IR) renal. Rol del receptor AT1 de angiotensinaII (AGII). Sara Molinas[1], Laura Trumper[2], Liliana Monasterolo[1], Mónica Elías[1]. Farmacología, Fac de Cs. Bioq y Farm, UNR, Argentina. [1]CONICET.[2]CIUNR.

AGII, a través del receptor AT1, posee propiedades vasoactivas y proinflamatorias. Su rol en la insuficiencia renal aguda isquémica no es claro. En otro trabajo observamos una mejoría de la función renal luego de IR cuando se pretrataron a los animales con el antagonista AT1, losartán. En el presente trabajo se estudió la respuesta inflamatoria luego de IR y se evaluó el efecto del bloqueo de receptores AT1 con losartán. Se sometió a ratas Wistar macho adultas a 40 min de isquemia renal unilateral seguidos de 24 h de reperfusión (IR, n=6). A otro grupo se le administró losartán (80 mg/kg/día, i.p.) durante 3 días previo a la isquemia (IRL, n=6). Los

controles se sometieron a operación simulada (C, n=5) y otro grupo control recibió losartán (CL, n=6). Se estudió la permeabilidad vascular mediante la extravasación de Azul de Evans al tejido renal. Se evaluó la actividad mieloperoxidasa (MPO), como una medida de infiltración de neutrófilos, en corteza y médula renal y los niveles de ARNm de la citoquina proinflamatoria, TNF-α, por RT-PCR. Los riñones IR presentaron un 50% de aumento en la permeabilidad vascular respecto a C y una elevada actividad MPO (corteza: C=1.2±0.1, IR=3.2±0.4*, médula: C=0.6±0.1, IR=3.2±0.5* U/g tejido, *p<0.05 vs C). En IR, los niveles de ARNm de TNF-α aumentaron respecto a C en corteza (160%) y médula (57%). El grupo CL no mostró diferencias con C. El pretratamiento con losartán evitó el aumento de MPO y de los niveles de ARNm de TNF-α en corteza y médula. La permeabilidad vascular continuó aumentada en IRL. Estos resultados muestran que el daño por IR se encontraría asociado a un importante proceso inflamatorio. AGII, a tavés de AT1, tendría un rol clave en la infiltración de neutrófilos y la inducción de TNF-α, pero no en el aumento de la permeabilidad vascular luego de IR, al menos en este estadío del desarrollo de la injuria. Las propiedades antiinflamatorias de losartán podrían estar asociadas a la recuperación de la función renal

POS 15-21

Expresión de ARNm del receptor periférico a benzodiazepinas (PBR) en el riñon post-isquémico. Lorena Roldán, Sara Molinas[1], Melina Pagotto[1], Laura Trumper[2], Liliana Monasterolo[1]. Farmacología. Dep. Cs. Fisiológicas. Fac. Cs. Bioq. y Farm. IFISE. Univ. Nac. Rosario, Argentina. [1]CONICET. [2]CIUNR.

Distintas situaciones patológicas llevan a la modulación de la expresión de PBR. En un modelo de autotrasplante renal se ha correlacionado la expresión de PBR con la calidad de preservación del riñón, la integridad mitocondrial y la regeneración tubular. Recientemente se ha demostrado que ligandos selectivos para PBR previenen del daño renal inducido por isquemia-reperfusión. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la expresión renal de ARNm para PBR en condiciones de isquemia y post-isquemia. En Ratas Wistar macho adultas se dispuso un clip en arteria renal derecha durante 40 min (I). En otro grupo, luego de este tiempo de isquemia, se permitió la reperfusión durante 24 h (IR). Los controles se sometieron a cirugía simulada (C). Se extrajeron los riñones, se separaron corteza y médula y se aplicaron técnicas de RT-PCR, utilizando primers para la amplificación de PBR según se describe en la bibliografía. Se coamplificó GAPDH como control interno. Las intensidades de las bandas de interés se refirieron a las de las correspondientes bandas de GAPDH y se expresaron en unidades arbitrarias. Los resultados obtenidos muestran que los niveles de ARNm de PBR no se modifican en el grupo sometido a isquemia renal respecto al grupo control. En las cortezas de los riñones reperfundidos durante 24 h se observa un aumento estadísticamente significativo en la expresión de ARNm de PBR (C: 0.46 ± 0.05, IR: 0.77 ± 0.05, p<0.05). Este hallazgo indica un aumento en la expresión de PBR renal en la etapa post-isquémica, sugiriendo un probable rol para este receptor en el desarrollo del daño inducido por isquemia-reperfusión.

POS 15-22

El género es un determinante del riesgo nefrotóxico inducido por el aluminio (Al). Stella Mahieu, Néstor Millen, María del Carmen Contini, Marcela González. Laboratorio de Investigaciones Fisiológicas Experimentales. Facultad de Bioquímica y Cs Biológicas. UNL. Santa Fe. Argentina.

Los hombres tienen mayor riesgo de injuria renal que las mujeres. Nuestro objetivo fue estudiar si las ratas machos son mas sensibles que las hembras, a los efectos deletereos del aluminio sobre la función renal. Se trabajó con seis grupos experimentales (cada uno n=6): controles machos (MC), hembras intactas (HC) y ovariectomizadas (HCOx), y tratados durante 3 meses con lactato de aluminio (0,62 mg Al/100 g peso, v.ip, tres veces por semana) M+Al, H+Al y HOx+Al .Se efectuaron balances de agua y sodio, se estudiaron parámetros hemodinámicos y tubulares y vinculados al estrés oxidativo: contenido de glutation (GSH), nivel de lipoperoxidación (LPO) y actividad de las enzimas antioxidantes glutation peroxidasa (GSH-Px) y catalasa (Cat). Solo en M+Al se observó un aumento de diuresis y natriuresis con reducción en la osmolaridad de la orina, cambios acompañados de un incremento en la concentración de aldosterona sérica. Los parámetros hemodinámicos mostraron las diferencias de género conocidas, sin estar afectados por el Al ni por la ovariectomía. No se observaron diferencias en la EF%Na y agua en los grupos tratados con Al. Solo en M+Al (no en hembras) se observó un aumento en la excreción de Fosfatasa Alcalina (ALP) expresada por mg de creatinina: M+Al 237,8± 33,7*, MC 134,5± 21,8. En M+Al el Al provoca daño oxidativo: aumento de los niveles de LPO, con reducción de GSH, y de la actividad de las enzimas antioxidantes (GSH-Px y Cat). En los grupos de hembras no se observaron cambios a excepción de un incremento en la actividad de GSH-Px en el grupo HOx+Al que podría estar indicando un mayor turnover de GSH. Estos datos sugieren que los machos muestran mayor riesgo de sufrir injuria renal por el Al, si bien no podriamos atribuir la menor sensibilidad al catión observada en las hembras a las hormonas sexuales.

POS 15-23

Efectos de losartán en un modelo de isquemia (I) e isquemia-reperfusión (IR) renal en ratas. Sara Molinas[1], Laura Trumper[2], María Fernanda Toniolo[3], Liliana Monasterolo[1], Mónica Elías[1]. Farmacología, Fac de Cs. Bioq y Farm, UNR, Argentina. [1]CONICET. [2]CIUNR. [3]Beca Carrillo-Oñativia.

El sistema renina-angiotensina es activado en diversas situaciones de daño renal. Su rol en la insuficiencia renal aguda isquémica es motivo de múltiples investigaciones. Angiotensina II (AGII), a través del receptor AT1, posee propiedades vasoactivas y proinflamatorias. Los objetivos del presente trabajo fueron estudiar la función renal y su correlación con los hallazgos histopatológicos luego de I e IR, y evaluar el efecto del bloqueo AT1 con losartán. Se sometió a ratas Wistar macho adultas (n=6 por grupo experimental) a 40 min de isquemia renal unilateral sin reperfusión (I) o seguidos de 24 h de reperfusión (IR). A otro grupo se le administró losartán (80 mg/kg/día, i.p.) durante 3 días previos a I (IL) o a IR (IRL). Los controles se sometieron a operación simulada (C) y otro grupo control recibió losartán (CL). Se estudió la función del riñón postisquémico por técnicas convencionales de clearance y se realizaron estudios histopatológicos**.** En IR se encontró un marcado deterioro en los parámetros hemodinámicos y tubulares. El pretratamiento con losartán mejoró estos parámetros.VFG (ml/min.g riñón): C: 0.8±0.1; CL: 1.4±0.2; IR: 0.004±0.001*; IRL: 0.4±0.07*$^{\#}$. EF_{Na+}(%): C: 1.5±0.5; CL: 1.4±0.1; IR: 88±25*; IRL: 3.8±0.9*$^{\#}$, *p<0.05 vs C, $^{\#}$p<0.05 vs IR. En I se observaron cambios a nivel del epitelio tubular, con distensión luminal y vacuolización citoplasmática. En IR se observó extensa necrosis tubular, colapso del penacho capilar glomerular y vacuolización de las células musculares de arterias y arteriolas. Los animales tratados con losartán (IL e IRL) presentaron lesiones morfológicas menos severas. El grupo CL no mostró diferencias respecto a C. Estos resultados muestran que losartán fue capaz de atenuar la disfunción renal y el daño tisular asociado a I e IR, indicando un rol importante de la activación del receptor AT1 por AGII en el desarrollo de la insuficiencia renal aguda isquémica.

POS 15-24

The nucleoside adenosine regulates the expression of the VEGF and VEGF receptor II in kidney glomeruli. D. Valladares, P. Montecinos, I. Concha, R. San Martín. Instituto de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile, Campus Isla Teja, Valdivia, Chile.

The local production of the vascular endothelial growth factor (VEGF) and VEGF receptors activation are relevant events associated with microvascular dysfunction, leading to glomerular hypertrophy and hyperfiltration during early onset of diabetic nephropathy (DN). In this study we determinate the role of the nucleoside adenosine on the VEGF and VEGF receptors expression in renal glomeruli. Methods: Rats kidney glomeruli were isolated by differential sieving of renal cortex (210, 150, 106 and 75μm pore sizes) and incubated in HAM-F10 medium at 37ºC supplemented with adenosine (10 μM). The VEGF and VEGF receptor subtype II (VEGF RII) mRNA and protein contents were measurement by RT-PCR and Western blot. Primary culture of podocytes was obtained from isolated kidney glomeruli and culture in DMEM:F12 medium supplemented with 5% SBF. The expression of adenosine receptors in primary culture of podocytes was evaluated by means of immunocytochemistry. Results: An increase in the mRNA and protein content of VEGF were observed in adenosine treated renal glomeruli. Similarly, an increased anti-VEGF immunofluorescence was observed in primary culture of podocytes. In addition, the expression of VEGF RII was higher in isolated glomeruli exposed to adenosine. In primary culture of podocytes we detected the expression of the adenosine receptor subtype A_{2a}. Conclusions: Our study determinate that the nucleoside adenosine increases the VEGF and VEGF receptor II expression in kidney glomeruli. Due to extracellular adenosine is produced locally in renal compartments, it could be a relevant mediator during the onset and progression of renal pathologies associated with an increased activity of VEGF-VEGFRII system such as DN. Financed by Fundación Andes C-14060/50 (Chile), DI-UACH S-2006-67.

POS 15-25

La Endotelina-1 modula la secreción de la glándula submaxilar en la rata. María Silvia Ventimiglia, Myrian R. Rodríguez, Juan Carlos Elverdín, Carlos Davio, Marcelo Vatta, Liliana Bianciotti. Cátedras de Fisiopatología, Fisiología-IQUIMEFA-CONICET, y Lab. Radiosótopos, Fac Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Cátedra de Fisiología. Fac Odontología, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

La endotelina 1 (ET-1) forma parte de una familia de isopéptidos relacionada fundamentalmente con el control de la función cardiovascular, pero posee efectos a nivel de la función digestiva. En trabajos previos demostramos su rol modulador de la secreción biliar. En el presente trabajo se estudiaron los efectos de ET-1 sobre la secreción de la glándula submaxilar en rata así como también los receptores y mecanismos intracelulares involucrados. Se canularon los conductos excretores recogiéndose muestras cada 3 min. La ET-1 (1nM) se administró intraglandularmente. La secreción salival estimulada se estudió mediante de curvas dosis respuesta a metacolina (MC) y noradrenalina (NA) en presencia o ausencia de ET-1. Los antagonistas de los receptores de endotelinas se administraron 5 min. antes de ET-1. La ET-1 no indujo secreción *per se*, pero incrementó la secreción estimulada por MC (1, 3, 10 y 30 μg/kg) un 125%, 42%, 28% y 26% respectivamente y la estimulada por NA (3, 30 y 10 μg/kg) en un 85%, 280% y 208% respectivamente. Los efectos de ET-1 se inhibieron en presencia de BQ-610 (antagonista selectivo de receptor ET_A) pero no de BQ-788 (antagonista selectivo de receptor ET_B). ET-1 incrementó también los niveles de AMPc de manera dosis dependiente, siendo el efecto bloqueado por BQ-610. Asimismo incrementó la hidrólisis de fosfoinosítidos, siendo el efecto inhibido por U73122 [inhibidor de fosfolipasa C (PLC)] y BQ-610. Estos resultados indican que ET-1 no es un agonista sialogogo, pero potencia la secreción salival inducida por MC y NA en la glándula submaxilar de rata a través

de la activación de receptores ET_A acoplados a la activación de adenilato ciclasa y PLC

POS 15-26

Efectos renales en la vida adulta de la restricción de zinc durante el crecimiento intrauterino y postnatal. Karlés C, Tomat A, Veiras L, Vallone C, Elesgaray R, Fassoli H, Inserra F, Balaszczuk A, Costa A, Arranz C. Cátedra de Fisiología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA. IQUIMEFA-CONICET. UCLS Fundación Barceló. Buenos Aires. Argentina.

Se estudiaron los efectos de la deficiencia moderada de zinc durante la vida fetal y posnatal temprana sobre la función y estructura renal de la rata adulta. Ratas Wistar recibieron desde el inicio de la preñez y hasta el destete: Dieta baja (B; 8 ppm zinc) o control (C; 30 ppm zinc). Las crías machos recién destetados de cada grupo de madres continuaron con: dieta baja (Cb y Bb) o control (Cc y Bc) durante 60 días. Se determinó presión sistólica (PAS), clearence de creatinina (C_{cr}) y actividad NO sintasa (NOS) en medula (MR) y corteza renal (CR) y la presencia de células apoptóticas por método TUNEL en el tejido renal. *p<0.01 vs Cc; $^{\&}$p<0.01vs Bc

Grupo	PAS (mmHg)	C_{cr} (ml/min.100g)	NOS CR (pg/g)	NOS MR (pg/g)	TUNEL(nº celulas/área)
Cc	126±3	0,56±0.08	320.7±6.8	421.9±6.9	5.2±2.8
Cb	147±3*	0,29±0,04*	257.4±7.9*	358.1±8.5*	20.9±5.4*
Bb	142±3*	0,26±0,06*	253.9±12.6*	353.9±16.8*	50.3±4.1*$^{\&}$
Bc	152±3*	0,32±0,01*	240.1±18.5*	333.0±24.2*	14.1±4.2*

La restricción de zinc durante la vida intrauterina y/o el crecimiento inducirían la activación de procesos proapoptóticos en el riñón y la disminución de la actividad de NOS renal. Estos mecanismos podrían inducir alteraciones en la estructura renal que explicarían la disminución del volumen de filtrado glomerular y el aumento de la presión arterial observado en la vida adulta de estos animales.

POS 15-27

Inmunomarcación de angiotensina II y del factor inducible por hipoxia HIF-1 en corteza renal: Efecto del sodio y la angiotensina II exógena. María Inés Rosón, Gabriel Cao, Silvana Della Penna, Susana Gorzalczany, Marcela Pandolfo, Belisario E Fernández, Jorge E Toblli. Cátedra de Fisiopatología, Fac de Farmacia y Bioquímica, Univ de Buenos Aires, Argentina.

Recientes estudios han demostrado que la concentración de angiotensina II (AngII) intrarrenal es mucho mayor que el nivel plasmático e involucra formación intracelular así como también internalización mediada por el receptor AT1. Este estudio investiga la regulación de Ang II en corteza renal de ratas sometidas a infusión aguda de Ang II exógena con y sin sobrecarga salina. Se estudiaron los siguientes grupos: C (SF); Ang 0.1 (0.1ug/kg/h), Ang 5 (5ug/kg/h), Ang 0.1-Na 0.5(0.5M), Ang 0.1-Na1 (1M), Ang 5-Na 0.5 y Ang 5-Na 1. Se midió clearance de creatinina (CC), reabsorción tubular de sodio (RTNa), Presión arterial media (PAM) y se evaluó Ang II y HIF-1 por inmunohistoquímica. Los resultados (X±ES) mostraron una disminución del CC (ml/min) en Ang 0.1(0.8±0.2 vs C: 1.7±0.2, p<0.05) y un incremento en Ang 5 (2.9±0.8 vs C, p<0.05), Ang 0.1-Na0.5 (3.6±0.7 vs Ang 0.1, p<0.05) y Ang 0.1-Na1 (2.6±0.2 vs Ang 0.1, p<0.05). La RTNa (mEq/min) disminuyó en Ang 0.1(122.4±25.0 vs C: 271.4±7.9, p<0.05) y se incrementó en Ang 5 (415.3±112.1 vs C, p<0.05), Ang 0.1-Na0.5 (515.7±99.3 vs Ang 0.1, p<0.05) y Ang 0.1-Na1 (424.9. La PAM aumentó significativamente en Ang 5-Na 1 con respecto al C, p<0.05). La inmunomarcación de Ang II (% /1.4mm^2) fue Ang 5>Ang 0.1>C (9.3±0.2> 6.9±0.2> 5.1±0.3, p<0.001), mientras que en presencia de la sobrecarga salina Ang 0.1- Na 0.5> Ang 5-Na 0.5 y Ang 0.1-Na 1> Ang 5-Na 1. La inmunomarcación de HIF-1 aumentó en Ang 0.1 (12.8±0.4 vs C: 7.6±0.2, p<0.001) y en el grupo Ang 0.1-Na 1 con respecto a Ang 5-Na1 (23.2±1.4 vs 16.9±0.4, p<0.001). Se concluye que la concentración de Ang II en corteza renal está mas relacionada con el transporte tubular de sodio y el grado de hipoxia tisular que con los niveles circulantes del péptido.

POS 15-28

Isoprostanos F2α previenen la inhibición del transporte de cloro (J_{Cl}) inducido por óxido nítrico en el asa de Henle cortical a través de un mecanismo proteina cinasa A dependiente de niveles de AMPc. Pablo D Cabral, Luis I Juncos, Sandra T Baigorria, Nestor H Garcia. Departamento de fisiología renal, Fundación J Robert Cade CONICET, Córdoba, Argentina.

El asa de Henle regula el manejo renal del sodio y consecuentemente la presión arterial. En este seg- mento del nefrón el óxido nítrico (ON) inhibe el transporte de cloro (J_{cl}) y las especies reactivas de oxí- geno disminuyen su biodisponibilidad. Por otro lado los isoprostanos, marcadores de estrés oxidativo, intervendrían en la patogenia de la hipertensión (HT) por su efecto vasoconstrictor y por efectos a nivel del nefrón distal. Evaluamos los efectos de 8-isoprostanos F2α (8-iso-PGF2α), sobre el J_{Cl} en asas de Henle corticales (AHC) de conejo aisladas y microperfundidas *in Vitro*. Las concentraciones de cloro fueron determinadas usando una técnica microfluorométrica. En experimentos control, el J_{Cl} basal fue 274±85 pmol/min/mm. El J_{Cl} disminuyó un 88% (p<0.001) en presencia de furosemida 10^{-4}M. Al agregar nitroprusiato de sodio (NPS) 10^{-6}M el J_{Cl} disminuyó un 42% (p<0.05). La presencia de 8-iso-PGF2α 10^4M incrementó el J_{Cl} basal un 53% (p<0.01), bloqueando el efecto inhibitorio de NPS, pero no de furosemida. El aumento del J_{Cl} inducido por 8-iso-PGF2α estuvo acompañado por un aumento del AMPc desde 18 a 35 fmol/min/mm (p<0.05). Este efecto fue bloqueado por H89, un inhibidor de la proteina cinasa A (PCA). En AHC incubadas con NPS 10^{-6}M y H89, 8-iso-PGF2α10^{-4}M no produjo cambios en el J_{Cl} . Al evaluar la síntesis de AMPc en iguales condiciones, observamos que el incremento de AMPc en presencia de 8-

iso-PGF2α 10^{-4}M no fue significativo. Concluimos que 8-iso-PGF2α estimulan el J_{Cl} y previenen la inhibición del J_{Cl} inducida por ON en el AHC por un mecanismo PCA dependiente de niveles de AMPc. Esta interacción entre 8-iso-PGF2α y ON favorecería a la retención de sal y/o HT.

POS 16
Endocrinología. Diabetes. Síndrome metabólico
Endocrinology. Diabetes. Metabolic Syndrome

POS 16-01

Celecoxib modifies the hepatic metabolism changes induced by the Walker-256 tumor in rats. Alexandra Acco[1], Nair S. Yamamoto[2], Mário Henrique R.A. da Silva[2], Adelar Bracht[2]. [1]Departament of Pharmacology, Federal University of Paraná; [2]Laboratory of Liver Metabolism, University of Maringá. Brazil. aleacco@ufpr.br. Financial support: CNPq

Recent investigations have revealed that inhibition of the formation of inflammatory mediators is likely to impair the development of tumors. The clinical improvement of cancer patients treated with antiinflammatories such as celecoxib could be partly due to a reversion of the metabolic alterations induced by tumors. The present work was planned to analyze the influence of the antiinflammatory agent celecoxib on alanine and arginine metabolism which is affected by Walker-256 tumor in rats. *Methods:* The animals were inoculated with tumor cells ($2x10^7$ cells s.c.) and divided into two groups: (1) not treated and (2) treated with celecoxib (25 mg/kg; Celebra®-200 mg- Pfizer). The latter was given orally, once a day during 14 days. Rats without tumor cells were used as control group (3). Hepatic perfusion experiments were done after 14 days of treatment in 24-hours fasted rats. The productions of glucose, lactate, pyruvate, ammonia, urea and oxygen uptake following substrate infusion were measured. *Results:* Celecoxib was efficient in reducing tumor growth (≈65%). Livers of tumor-bearing rats presented lower rates of basal oxygen consumption (1.61±0.19 μmol min^{-1} g $liver^{-1}$) when compared to the controls (2.23±0.18 μmol min^{-1} g $liver^{-1}$). Livers of tumor-bearing rats treated with celecoxib, however, presented oxygen uptake rates similar to that of the control rats (2.15±0.24 μmol min^{-1} g^{-1}). In the presence of alanine as a substrate, the oxygen uptake increment, urea production and gluconeogenesis were smaller in the tumor-bearing condition, but close to the control condition in tumor-bearing rats treated with celecoxib. Arginine transformation into urea was considerably increased in livers of tumor-bearing rats. Treatment with celecoxib was almost without effect on this tumor-induced modification. *Conclusion:* a) celecoxib normalizes basal oxygen consumption in livers of tumor-bearing rats; b) reverses the changes induced by the tumor on the hepatic alanine metabolism; c) is ineffective in reducing the increased arginine transformation induced by the tumor.

POS 16-02

Excreción de magnesio y resistencia a la insulina en niños obesos. Alicia M. de Jensen, Miryan López, Claudia Mir, Ma. Ester I. de Pianesi, Alejandra Muhn, Soledad Zunino, Cátedra de Fisiología Human, Fac de Cs. Ex., Quím. y Nat, Univ Nac. de Misiones - Hospital Pcial de Pediatría Dr. F. Barreyro, Posadas,Misiones, Argentina.

Los desordenes endócrinos y metabólicos generados en la obesidad e insulino resistencia modulan el manejo tubular de magnesio en el riñón. El objetivo de este estudio ha sido evaluar la excreción de magnesio en niños obesos y controles así como la influencia de la resistencia insulínica. Se estudiaron 89 niños obesos (OB), 52% con insulino resistencia (IR), y 96 controles (C), de ambos sexos, entre 5 y 15 años, definiéndose como obesidad a un IMC ≥ al percentilo 95, para sexo y edad. Se tomaron muestras de sangre en ayunas y orinas de 24 hs. Los niveles de magnesio sérico y urinario, e insulina se determinaron mediante las técnicas colorimétrica y enzimoinmunoensayo de micropartículas-MEIA, respectivamente. El índice de resistencia insulínica fue estimado a través del HOMA (homeostasis model assessment index) > 3. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$)en los valores de magnesio sérico: OB: 0.82 ± 0.14 mMol/l, IR: 0.82 ± 0.13 mMol/l y C: 0.81 ± 0.14 mMol/l. La excreción de magnesio (Mgo) del grupo OB fue 90 ± 56 mg/24hs, del grupo IR 91± 59 mg/24 hs. Los niños controles presentaron Mgo significativamente menor que ambas poblaciones (67 ± 37 mg/24 hs, $p < 0.05$). El resultado de nuestros estudios demuestra que los niños obesos e insulino resistentes tienen una mayor excreción de magnesio con respecto a la población control debido, posiblemente, al manejo renal inadecuado del magnesio.

POS 16-03

Efecto de la diabetes experimental y la simpatectomía química sobre el contenido de catecolaminas y el comportamiento alimentario. Angélica Pérez-Juárez, Rubén Martínez-Olivares, Radu Racotta, Manuel Piñón. Lab. de Metabolismo, Depto. de Fisiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México.

Los reportes sobre el contenido de catecolaminas en plasma y en diferentes órganos de animales diabéticos son controversiales, ya que se ha encontrado incremento, disminución, o ningún cambio y estas diferencias se han explicado con base en los tejidos estudiados y en la duración o severidad de la diabetes. Con el objetivo de estudiar la interacción entre el sistema nervioso simpático y la diabetes, se realizó un modelo de diabetes en ratas simpatectomizadas para determinar si el contenido de catecolaminas en diferentes órganos intraabdomina-

les y el comportamiento alimentario se modifican y si la ausencia del sistema nervioso simpático cambia el tiempo de establecimiento de la diabetes. Los resultados obtenidos sugieren que el tratamiento con estreptozotocina tuvo un efecto agudo sobre los niveles de noradrenalina en la mayoría de los tejidos estudiados, aunque el significado fisiológico de tales efectos se desconoce. (A Pérez-Juárez y R Martinez-Olivares son becarios PIFI-IPN Y CONACyT; R Racotta es becario EDI-IPN; M Piñon es becario EDI-IPN y COFAA-IPN. Parcialmente financiado por el proyecto CGPI-IPN 20050086.)

POS 16-04

La dopamina induce apoptosis de células adenohipofisarias. Daniela Radl, Andrea De Laurentis, Gabriela Jaita, Sandra Zárate, Verónica Zaldivar, Adriana Selicovich, Daniel Pisera. Centro de Investigaciones en Reproducción, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Hemos observado que el estradiol (E2) sensibiliza a las células adenohipofisarias a factores proapoptóticos como TNF-α y Fas-L. Es reconocido el efecto inhibitorio de la dopamina (DA) sobre la secreción de prolactina y la proliferación de lactotropos. Sin embargo, no existen estudios acerca de su participación en los procesos de muerte en células adenohipofisarias normales. En el presente trabajo evaluamos los efectos de DA sobre la viabilidad (MTS) y la apoptosis (TUNEL, Anexina-V) de células adenohipofisarias en cultivo, provenientes de ratas ovariectomizadas, incubadas en presencia de E2 (10-9 M, 48 h) ó vehículo. DA (10-6 M, 4 h) disminuyó la viabilidad (Control: 0.41 ± 0.01 (D.O., 495 nm); vs DA: 0.43 ± 0.02, n.s.; E2: 0.42 ± 0.01 vs E2+DA: 0.36 ± 0.01, $p<0.05$, ANOVA), y aumentó el número de células TUNEL positivas (DA 10-6 M, 8 h) sólo cuando las mismas fueron cultivadas en presencia de E2 (Control: 8.23 % vs DA: 6.6, n.s.; E2: 1.92 vs E2+DA: 15.96, $p<0.01$, $\chi 2$.). Bajo estas condiciones, DA (10-6 M, 2 h) aumentó el porcentaje de células apoptóticas (Anexina-V, citometria de flujo) (E2: 27.03 ± 0.49 vs E2+DA: 38.14 ± 2.06, $p< 0.01$, ANOVA). Por otro lado, la sulpirida, un antagonista del receptor D2 (S, 10-7 M), bloqueó la disminución de la viabilidad celular inducida por DA en presencia de E2 (Control: 0.20 ± 0.01 (D.O., 495 nm) vs DA: 0.16 ± 0.01, $p<0.01$; S: 0.22 ± 0.01, vs S+DA: 0.21 ± 0.02, n.s., ANOVA), e inhibió el efecto apoptótico de esta catecolamina (TUNEL; Control: 5.58% vs DA: 14 $p<0.01$, S: 5.39 vs S+DA: 3.45, ns). Estos resultados indican que DA, en concentraciones fisiológicas, induce apoptosis de células adenohipofisarias previamente sensibilizadas por los estrógenos. Esta acción es mediada, al menos en parte, por su interacción con receptores D2.

POS 16-05

Variabilidad de la frecuencia cardíaca durante el sueño en pacientes diabéticos tipo 2. María Patricia Reyes(1), Claudio Podestá(2), Daniel Vigo(1), Claudia Calderon(2), Daniel P. Cardinali(1), 1.Lab. Neurociencia, Depto de Fisiología y Biofísica, Fac Medicina, Univ de Buenos Aires, Argentina. 2.Lab. de Estudio del Sueño y la Vigilia, Instituto de Investigaciones Neurológicas Raúl Carrea (FLENI), Buenos Aires, Argentina.

El análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) es una técnica no invasiva que permite evaluar la regulación autonómica del ritmo sinusal, presentando un valor pronóstico independiente para la aparición de arritmias fatales. La neuropatía autonómica diabética (NAD) es una complicación frecuente, relacionada con un incremento del riesgo de mortalidad cardiovascular. El objetivo de este estudio fue evaluar la VFC durante el sueño en pacientes diabéticos. Para ello realizamos un estudio transversal en el que se reclutaron consecutivamente 11 pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2, del laboratorio de Sueño y la Vigilia de FLENI, desde abril del 2005 a mayo del 2006 y un grupo control de 9 individuos. A todos los pacientes se les realizó una polisomnografía. Se evaluaron indicadores de VFC en el dominio de la frecuencia: área total (TA), alta frecuencia (HF) y baja frecuencia (LF). Se analizaron diferencias en relación a la vigilia, etapa II y REM y a la presencia de diabetes, mediante ANOVA factorial. Se observaron resultados significativos en el componente HF en relación a la vigilia (dbt 4.714 ± 097 vs controles 6.177 ± 1.33, $p = 0.02$). Conclusión: en los pacientes diabéticos tipo 2, un menor componente de alta frecuencia durante la vigilia se relaciona con peor pronóstico en la evolución de la enfermedad. No pudieron evidenciarse durante las etapas del sueño analizadas diferencias significativas en el análisis de VFC. Las alteraciones en la arquitectura del sueño propias de estos pacientes dificultan el estudio en las etapas III y IV.

POS 16-06

Incidencia del estado nutricional sobre la actividad de la fosfoenolpiruvatocarboxiquinasa. Ribas, María Belén, Cadenazzi, Gabriela, Cerone, Silvia, Sansinanea, Aldo, Lab. Fisiol. Liq. Corporales, Dpto. Fisiopatología, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNCPBA.

La fosfoenol piruvato carboxiquinasa (PEPCK) cataliza la fijación de CO_2, usando fosfoenolpiruvato como sustrato, para formar oxalacetato. La enzima participa tanto en la gluconeogénesis, como en el proceso de gliceroneogénesis en el tejido adiposo. El objetivo del presente trabajo fue estudiar las modificaciones en la actividad de la enzima PEPCK hepática bajo diferentes condiciones nutricionales y dietarias que generan variaciones en la disponibilidad de sustratos gluconeogénicos y en el estado energético. Dos grupos de ratas fueron sometidas a ayuno, cinco de ellas durante 24 h (grupo 2A) y otras cinco (grupo 2B) durante 48 h. A otros dos lotes se les proporcionó: una ingesta rica en glúcidos (grupo 3), y al restante fue alimentado con una dieta preponderantemente proteica (grupo 4). Se dispuso de ratas controles alimentadas ad libitum (grupo 1). Se determinaron indicadores del estado energético, glucemia, proteinemia, lipemia y uremia y fueron correlacionados con la actividad enzimática obtenida. En el grupo

1 el valor promedio de la actividad enzimática fue de 3.20 (± 0.17) µmoles/ml/min. Para el grupo 2A: 4.42 (± 0.24) µmoles/ml/min y para el grupo 2B: 5.46 (± 0.32) µmoles/ml/min. Para el grupo 3: 2.51 (± 0.18) µmoles/ml/min y para el grupo 4 fue de 3.21 (± 0.23) µmoles/ml/min. La glucemia, en el grupo 2A, se halló disminuida, mientras que para el 2B la hipoglucemia fue manifiesta. La uremia y lipemia se encontraron incrementadas en ambos grupos. En el grupo 3 la glucemia se halló dentro de valores considerados normales, aunque en límites superiores y los niveles séricos de proteínas y lípidos fueron similares a los establecidos en los controles. El grupo 4 presentó una glucemia normal y una uremia elevada. De acuerdo a los resultados obtenidos se ha podido evidenciar la influencia de diferentes estados metabólicos sobre la actividad de la PEPCK, constituyéndose la glucemia en un factor determinante en el control de la actividad enzima.

POS 16-07

Evolução do Diabetes Mellitus em ratos neonatos tratados com aloxana. Carla Ribeiro, Fabrício Voltarelli, Clécia de Alencar Mota, Camila A. M. de oliveira, Maria Alice Rostom de Mello - Departamento de Educação física- Unesp- Rio Claro- SP- Brasil.

Ratos tratados com streptozotocina no período neonatal têm sido empregados como modelo de diabetes mellitus (NIDDM). Pouco se sabe sobre o modelo de diabetes neonatal induzido por aloxana. No intuito de verificar a adequação do modelo a futuros estudos com exercício, analisou-se a evolução do quadro diabético em ratos submetidos ao tratamento neonatal com aloxana. Ratos wistar recém nascidos (6 dias) receberam aloxana (200mg/kg de peso corporal) via intraperitoneal. Como controles utilizaram-se ratos injetados com veículo (tampão citrato). Após o desmame (28 dias) e aos 60 dias de idade, os animais foram avaliados "in vivo" quanto à tolerância à glicose (TTG), pelo teste oral de tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina, pelo índice "*Homeostasis Assesment Model*" (HOMA). Decorridas 48 horas, foram sacrificados para a retirada do músculo sóleo, visando análises "in vitro" de captação e oxidação de glicose e concentração de glicogênio. A Área sob a curva de glicose sérica durante o TTG (mg/dlx120min) aos 28 dias (A=14662,03±747,54; C=11508,81±734,44) e aos 60 dias (A=15282,21±1221,84; C=11463,45±655,3) foi maior (teste *t*, $p<0,05$) no grupo A que no C. Com relação à sensibilidade à insulina, aos 28 dias o grupo A apresentou valores de HOMA menores (2,54±0,87) que o grupo C (2,9±0,99). Já aos 60 dias, ocorreu o inverso (A=2,60±0,79 e C=2,42±0,75). Aos 60 dias, a concentração de glicogênio no músculo sóleo (mg/100mg) foi menor (teste *t*, $p<0,05$) no grupo aloxana (A= 0,28±0,13) do que no controle (C= 0,48±0,07). Não houve diferença entre os grupos quanto a: Captação (µ mol/g x h) (C=5,80±0,63; A=5,23±0,73) e Oxidação (µmol/g x h) de Glicose (C=4,34±1,13; A=3,89±0,44) pelo músculo sóleo. Consideramos que este modelo de indução neonatal de NIDDM reúne características interessantes, podendo ser útil para futuros estudos sobre o papel do exercício na manifestação do diabetes mellitus. Apoio Financeiro: Fapesp.

POS 16-08

Modelo experimental para o estudo da síndrome metabólica - Estudo Piloto. Clécia Soares de Alencar Mota, Camila Aparecida M de Oliveira, Camila de Moraes, Carla Ribeiro, Fabrício Voltarelli, Maria Alice Rostom de Mello, Departamento de Educação Física, IB, UNESP-Rio Claro - SP, Brasil.

Na identificação da síndrome metabólica, existem controvérsias, pois não há um único critério internacional para a descrição definitiva. As alterações comuns encontradas na tentativa de definir essa síndrome incluem resistência à insulina, com ou sem diabete mellitus tipo 2, hipertensão arterial, obesidade, dislipidemia, disfunção endotelial, entre outras. O presente estudo visou analisar características metabólicas de ratos submetidos ao tratamento neonatal com aloxana e/ou à dieta hipercalórica altamente palatável do desmame à idade adulta. Foram utilizados ratos da linhagem Wistar, os quais receberam, aos seis dias de idade, injeção intraperitonial de aloxana - grupo aloxana (200mg/Kg de peso corporal); ou tampão citrato 0,01M - grupo controle. Ao desmame (21 dias), os grupos foram subdivididos conforme a dieta recebida, balanceada (AIN 95) ou hipercalória, compondo 4 grupos: Aloxana (A); Aloxana Hipercalórica (AH); Controle (C) e Hipercalórica (H). Foram analisados ganho de peso, pressão arterial, concentrações séricas de glicose, insulina,colesterol total e ácidos graxos livres (AGL). O grupo AH teve ganho de peso superior (15,7%) comparado ao grupo C, não diferindo dos demais grupos. A pressão arterial do grupo A foi superior (23,4%), enquanto que a dos demais não diferiu do grupo C. A glicemia apresentou-se aumentada nos grupos A (35,8%) e AH (31,7%) e a insulinemia, no grupo A (36,9%) em comparação ao grupo C. As concentrações séricas de colesterol total elevaram-se nos grupos A (18,2%) e AH (39,8%). Houve aumento das concentrações circulantes de AGL nos grupos H (49,4%) e A (33,1%) comparados ao grupo C. A associação entre aloxana e dieta hipercalórica pode causar alterações como aumento do peso corpóreo, hiperglicemia, aumento do colesterol total, características presentes em quadros de síndrome metabólica. Portanto, esse modelo pode ser útil no estudo da referida síndrome.

POS 16-09

Glycogen levels and energy status of the liver of fasting rats with diabetes types 1 and 2. Fumie Suzuki Kemmelmeier[1], Ciomar Aparecida Bersani Amado[2], Luci Tiemi Ide[1], Miriam Carvalho Martini[1], Adelar Bracht[1]. [1]Laboratory of Liver Metabolism, [2]Laboratory of Pharmacology, University

of Maringá. Brazil. fskemmelmeier@uem.br
Glycogen levels and the energy status of liver from fasting rats with diabetes types 1 and 2 were measured. The main purpose was to obtain basic information for planning investigations on gluconeogenesis from several substrates in fasting diabetic rats. In diabetes 1 rats presented very high levels of blood urea; blood ammonia was also increased . In diabetes 2 rats the blood urea and ammonia levels were within the normal range. After a 24 hours fast the hepatic glycogen levels of rats with diabetes1 were 18.7 times higher than those of livers from normal rats. Rats with diabetes 2 presented 2.6 more hepatic glycogen than control rats. In diabetes 1 rats the glycogen levels decreased when the fasting period was extend to 48 and 72 hours. The opposite occurred with control and diabetes 2 rats so that after a 72 hours fast all groups presented nearly the same hepatic glycogen levels. Consistently, glucose release by perfused livers from diabetes1 rats was considerably higher at least 6o minutes after iniciating perfusion although the difference tended to diminished along with the perfusion time. The hepatic ATP content of diabetes 1 rats was similar to that control rats; in diabetes 2 rats the ATP content was increased. It can be concluded that regulation of glycogen deposition and degradation in rats with diabetes1 differs markedly from rats with diabetes 2 which, in turn, behave similarly to normal healthy rats.

POS 16-10

Spirulina e crescimento muscular durante a recuperação de ratos submetidos à desnutrição. Fabrício Azevedo Voltarelli, Carla Ribeiro, Michel Araújo, Clécia Mota e Maria Alice Rostom de Mello. Depto. de Educação Física, IB, Unesp, Rio Claro, SP, Brasil.

O presente estudo objetivou avaliar os efeitos da alga verde-azulada spirulina como única fonte de proteína na dieta sobre o crescimento da musculatura esquelética de ratos durante a recuperação de desnutrição. Ratos wistar foram separados em 5 grupos (n=10 por grupo), de acordo com o protocolo de dieta administrado: Caseína 6% dos 30 aos 150 dias (C-6); Spirulina 17% dos 30 aos 150 dias (S-17); Caseína 17% dos 30 aos 150 (C-17); Caseína 6% dos 30 aos 90 dias e Spirulina 17% dos 91 aos 150 dias (C-6/S-17) e Caseína 6% dos 30 aos 90 dias e Caseína 17% dos 30 aos 90 dias e Caseína 17% dos 91 aos 150 dias de idade (C-6/C-17). Visando inferir sobre o crescimento muscular, foram avaliados teor de DNA (índice do número de células) e a razão proteína/DNA (índice de tamanho celular) do músculo sóleo isolado. Os ratos submetidos à restrição protéica (C-6) apresentaram baixos níveis de albumina sérica, menor ganho de peso corporal e elevado conteúdo de lipídios hepáticos quando comparados aos grupos C-17 e S-17, comprovando assim a indução de desnutrição. Os teores de DNA (g/100g de tecido) não diferiram entre os grupos S-17 (0,147±0,009); C-17 (0,148±0,012); C-6/S-17 (0,149±0,014) e C-6/C-17 (0,145±0,013), mas foram menores no grupo C-6 (0,139±0,014). Os valores referentes à razão proteína/DNA (g/100g de tecido) mostraram-se elevados nos grupos S-17 (24,0±3,5) e C-17 (23,9±3,2) em relação aos grupos C-6 (10,2±2,4); C-6/S-17 (17,5±3,1) e C-6/C-17 (17,4±2,3). As fontes protéicas spirulina e caseína foram igualmente capazes de restabelecer os teores de DNA muscular dos animais previamente submetidos à restrição protéica. O mesmo não foi observado quanto à razão proteína/DNA. Podemos concluir que o modelo de desnutrição aqui empregado promoveu alterações irreversíveis à musculatura esquelética quanto ao tamanho celular (hipertrofia), não ocorrendo o mesmo quanto ao número de células (hiperplasia) musculares desses animais.

POS 16-11

Effects of the *Kielmeyera coriacea* extract on energy metabolism in the rat liver. Nair S. Yamamoto[1], Janaína Naldi Zagoto[1], Mario H. R. A. da Silva[2], Clairce L. S. Pagadigorria[1], Emy L. Ishii-Iwamoto[1], Adelar Bracht[1], Diógenes A. Garcia Cortez[2]. [1]Laboratory of Liver Metabolism, [2]Laboratory of Pharmacology, University of Maringá. Brazil. nsyamamoto@uem.br

Kielmeyera coriacea Mart is a tree of the Clusiaceae family, popularly known in Brazil as *pau santo*. Crude aqueous extracts of the plant are traditionally used by the native population of Brazil in the treatment of several tropical diseases including schistosomasis, leishmaniasis, malaria, fungal and bacterial infection. The action of the *Kielmeyera coriacea* extract on hepatic energy metabolism was investigated, in the present work, using the perfused rat liver and isolated mitochondria. In perfused livers the extract caused stimulation of oxygen consumption, inhibition of gluconeogenesis from lactate and pyruvate and stimulation of glycogenolysis and glycolysis. Increments in oxygen consumption, glycolysis and glycogenolysis were already evident at 20 μg/ml of the extract. Glucose production was substantially inhibited by 20 μg/ml and at the concentration of 80 μg/ml glucose release was reduced by 80%. In isolated mitochondria the *Kielmeyera coriacea* extract stimulated state IV respiration, reduced the ADP/O ratio and decreased the respiratory coefficient with the substrates α-ketoglutarate and succinate in a lower range of concentration (0.60-20 μg/ml). The activities of succinate-oxidase, NADH-oxidase, NADH dehydrogenase and succinate dehydrogenase were inhibited. The ATPase of intact mitochondria was stimulated, but the ATPase of uncoupled mitochondria was inhibited and the ATPase of disrupted mitochondria was not altered by the extract. The results of this investigation suggest that the *Kielmeyera coriacea* extract impairs the hepatic energy metabolism by acting as mitochondrial uncoupler and inhibitor of enzymatic activities linked to the respiratory chain.

POS 16-12

Islet neogenesis associated protein increases the expression of several proteins involved in

growth and differentiation of neonata rat pancreatic islets. Helena Barbosa[1], Silvana Bordin[2], Kelly Silva[1], Everardo Carneiro[1], Maria Borelli[3], Juan Gagliardino[3], Antonio Boschero[1]. [1] Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, SP. [2] Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP, Brasil. [3] CENEXA, Universidad de La Plata, La Plata, Argentina.

The Islet Neogenesis Associated Protein (INGAP), a polypeptide originally isolated from cellophane wrapped pancreas of hamsters, increases pancreatic β-cell mass and potentiates glucose-induced insulin secretion. We investigated the effects of a pentadecapeptide having the 104-118 amino acid sequence of INGAP (INGAP-PP) on the mechanism of insulin secretion and transcript profile expression in cultured neonatal pancreatic rat islets. The macroarray analysis showed that 210 out of 2352 genes spotted in the nylon membranes were up-regulated while only 4 were down-regulated by INGAP-PP-treatment. INGAP-PP increased the gene and protein expression of SUR1, Kir6.2, and M3 muscarinic receptor sub-type. INGAP-PP treatment also increased AKT1, mTOR, PHAS-I, ERK2, and MEKK1 gene expression as well as ERK1/2 protein phosphorylation, compared with control islets. The insulin secretion, induced by glucose (8.3 and 16.7 mM), tolbutamide (100 μM) and carbachol (200 μM) was also significantly higher in INGAP-PP-treated islets. These results suggest that INGAP modulates growth and differentiation of pancreatic β-cells by up-regulating proteins involved in PI3K and MAPK pathways. The increase of insulin secretion induced by glucose, carbachol and tolbutamide, associated with the increased expression of M3 muscarinic receptor sub-type as well as proteins that form the K_{ATP}-channels, also indicate that INGAP directly affects important steps of the insulin secretion mechanism.

POS 16-13

Vías intracelulares que median la liberación de amilasa pancreática por el Péptido Natriurético tipo C (CNP). Liliana Bianciotti, María Sabbatini, María di Carlo, Carlos Davio, Marcelo Vatta,. Cátedras Fisiopatología y Fisiología-IQUIMEFA-CONICET y Lab. de Radiosótopos, Fac Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires. Argentina

CNP estimula la liberación de amilasa pancreática, mostrando una respuesta bifásica o estimulación restringida similar a la inducida por colecistoquinina (CCK) o carbacol. En este trabajo estudiamos en acinos pancreaticos aislados los receptores y vías intracelulares que median esta respuesta. Los acinos se incubaron con CNP u otros péptidos y en algunos casos previo tratamiento con inhibidores específicos. Los resultados mostraron que cANP (4-23 amide) (agonista del receptor NPR-C) mimetizó la respuesta de CNP, pero la misma no se modificó por antagonistas muscarínicos, de CCK o VIP. Asimismo carbacol, CCK o VIP no afectaron la máxima respuesta de CNP (1pM). El pre-tratamiento de los acinos con suramina o *toxina pertussis* no modificó la liberación de amilasa basal pero inhibió la estimulada por CNP. Estos resultados confirman que la respuesta de CNP está mediada por NPR-C sin participación de NPR-A y NPR-B ya que éstos no se acoplan a proteína G. La liberación de amilasa por CNP se inhibió por U73122 y GF109302 (inhibidores de PLC y PKC), pero no por H-89 o KT5023 (inhibidores de PKA y PKG). El EGTA redujo la liberación de amilasa basal pero anuló la inducida por CNP. El péptido estimuló la hidrólisis de fosfoinosítidos, efecto anulado por U73122. A concentraciones 0.1 y 1pM no modificó los niveles de AMPc ni GMPc, pero a 0.1-100 nM redujo el AMPc e incrementó el GMPc. El efecto sobre AMPc se inhibió por U73122 y GF109302, pero no sobre el GMPc. Estos resultados indican que el CNP actúa sobre las células acinares estimulando la liberación de amilasa por activación del receptor NPR-C acoplado a la vía PLC/PKC. La atenuación de la respuesta secretora a mayores dosis estaría relacionada con la reducción del AMPc a través de NPR-C acoplado a PLC/PKC y/o incremento del GMPc por activación de receptores NPR-A y/o NPR-B.

POS 16-14

Camundongos geneticamente hiperlipidêmicos são intolerantes a glicose e resistentes a insulina. [1]Maria Lúcia Bonfleur, [1]Emerielle Cristine Vanzela, [1]Marciane Milanski, [2]Sandra Lucinei Balbo, [1]Everardo Magalhães Carneiro, [1]Antonio Carlos Boschero, [1]Helena Coutinho Frando de Oliveira. [1]Depto de Fisiologia e Biofísica - UNICAMP, Brasil; [2]CCBS - UNIOESTE - Brasil.

Anormalidades no metabolismo de glicose e de lipídios estão envolvidos na patogênese do diabetes tipo 2. Nosso objetivo foi avaliar o efeito de diferentes dilsipidemias genéticas sobre a homeostase glicêmica e sobre a secreção de insulina de ilhotas isoladas. Os modelos genéticos utilizados foram os seguintes: R1 (um alelo funcional para o receptor de LDL apresentado hipercolesterolemia moderada); CIII (transgêncio que super expressa a apoCIII apresentando hipertrigliceridemia severa); CIII/R1 (hipertrigliceridêmico mais um alelo funcional para o receptor LDL, fenótipo de hiperlipidemia familiar combinada) e R2 (controle). Animais foram estudados com 8 meses de idade. Triglicerídeos e colesterol palsmáticos foram determinados por métodos enzimáticos e a insulina por radioemunoensaio. Para o GTT os animais receberam 1,5g/Kg de glicose oral e para o ITT 0,5U/Kg de insulina ip. A glicose foi determinada com auxílio de um glicosímetro. As ilhotas foram isoladas pelo método da colagenase e incubadas durante 1 hora com 5,6 ou 16,7 mM de Gli. A Área sob a curva (AUC) calculada durante o OGTT e ITT foi 1,30 e 1,13 vezes maior nos animais CIII/R1 em relação aos controles. As ilhotas isoladas dos camundongos CIII/R1 quando estimuladas com 5,6 mmol de Gli secretaram mais insulina quando comparadas com o grupo controle (0,536±0,08; 0,165±0,06, respectivamente n=10 $p<0,05$). O mesmo foi observado quando as ilhotas foram estimuladas com 16,7 mmol de Gli

(9,01±2,01; 3,90±0,88 n=10 p<0,05). Assim, animais com hiperlipidemia combinada são intolerantes a glicose e resistentes a insulina e suas ilhotas são mais sensíveis a glicose.

POS 16-15

Efecto de la aplicación de ciclos de privación proteica-realimentación sobre la regulación de enzimas hepáticas de ratón. Caballero, V.J., Ronchi, V.P., Ocampo, E.H., Chisari, A.N., Conde R.D. Instituto de Investigaciones Biológicas. FCEyN-UNMDP. CC1245. (7600) Mar del Plata. Argentina.

La privación crónica de alimento altera el metabolismo hepático incrementando la vulnerabilidad a carcinomas. En ratón, el suministro de dietas sin proteína (SP) alternadas por períodos de realimentación normal (N), aumentaría la incidencia de lesiones precancerosas en hígado. El objetivo fue evaluar el efecto de esos cambios nutricionales sobre la expresión de anhidrasa carbónica III (ACIII) y gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) en hígado de ratón hembra. Se aplicaron tres ciclos de privación proteica-realimentación (SP-N) y también se analizó el efecto de la incorporación de Met ó Lys a SP (SP+Met-N ó SP+Lys-N). El nivel de transcriptos y de proteínas citosólicas se determinó por qRT-PCR y densitometría a partir de geles SDS-PAGE respectivamente. Al final del ensayo se observó una disminución de la masa corporal y hepática en animales tratados con los ciclos SP-N y un alto porcentaje de mortalidad. Los ciclos SP+Met-N y SP+Lys-N mantuvieron el peso corporal de los animales similar al grupo control. El nivel de ARNm y proteico de ACIII disminuyó 30% y 40% respectivamente con los ciclos SP-N. La adición de Met (SP+Met-N) previno estos cambios, mientras que Lys (SP+Lys-N) solo evitó la disminución de ACIII a nivel transcripcional. Los niveles de ARNm y proteína de GAPDH no evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos. Los resultados indican la presencia de cambios irreversibles en la regulación de la ACIII con los ciclos SP-N dado que su nivel no se recupera luego del último periodo de realimentación. Además sugieren que Met estaría involucrada en la regulación transcripcional y traduccional de ACIII. Mientras que Lys solo intervendría a nivel transcripcional. Los cambios observados en el modelo SP-N podrían estar asociados a procesos de transformación celular, lo cual permitiría profundizar en el estudio de marcadores tempranos de hepatocarcinogénesis y su regulación. *Financiado por CONICET, CIC, UNLP, UNMDP.*

POS 16-16

Anti-inflammatory effect of VIP on resident macrophages of mouse salivary glands Calafat Mario, Larocca Luciana, Mestre Ana, Pérez Leiros Claudia. Depto. Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA-CONICET

Salivary dysfunction characteristic of some autoimmune rheumatic diseases is often associated with a local inflammatory reaction within the salivary glands and increased apoptosis. TNF-alpha synthesized by macrophages is one of the early mediators of inflammation and apoptosis in several tissues. Vasoactive intestinal peptide (VIP), the most abundant neuropeptide in the immune system, inhibits the inflammatory reaction of peritoneal macrophages by reducing the production of TNF-alpha and nitric oxide, among other proinflammatory mediators. Our goal was to investigate the effect of VIP on resident macrophages extracted from normal exocrine glands. Macrophages of BALB/c female mice of 16 weeks of age were isolated from peritoneal exudates by lavage and from submandibular glands by enzymatic digestion of acini followed by adherence. Apoptosis was evaluated by Hoescht and RT-PCR. Cells were cultured for 24 h with or without stimuli, TNF-alpha was determined by a bioassay and nitrites accumulation by Griess. Our results indicate that TNF induced apoptosis of isolated acinar cells. Glandular resident macrophages stimulated with LPS produced similar levels of TNF and nitrites than peritoneal macrophages. VIP 100 uM was able to inhibit both nitrites (85 %) and TNF-alpha (90 %) levels to the same extent in resident glandular and peritoneal macrophages. We conclude that in normal conditions, the profile of local resident macrophage response is similar to that of peritoneal cells.

POS 16-17

Actividad del sistema neuronal LHRH en un modelo animal de enanismo por desnutrición. C Compagnucci, G Compagnucci, A Lomniczi, C Roig, CE Mohn, J Elverdin, SM McCann, V Rettori, P Boyer. Cátedra de Fisiología, FOUBA y Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-CONICET-UBA).

En un modelo animal de ingesta subóptima leve y crónica que conduce a un enanismo por desnutrición (ED), observamos retraso puberal con disminución de los niveles séricos de LH, FSH, Testosterona (T), sin cambios luego de 30 min de incubación en la secreción basal y contenido de LHRH en hipotálamo medio basal (HMB). En el presente trabajo los objetivos fueron evaluar las posibles modificaciones en la secreción basal de LHRH a un tiempo mayor que pudieran ser responsables de la disfunción del eje gonadotrófico en el ED, y evaluar el grado de sensibilidad a un estímulo a glutamato sobre la secreción de LHRH de HMB. Ratas macho Wistar al destete (n=10-12/grupo) se dividieron en 4 grupos: control T4 (CT4) recibió una dieta equilibrada para roedores ad libitum por 4 semanas (sem), control T12 (CT12) se alimentó de igual modo que CT4 por 12 sem, EDT4 recibió un 80% de la comida consumida por CT4 el día previo, por 4 sem, y EDT12 se alimentó de igual modo que EDT4 pero luego de la 4ta sem fue alimentado ad libitum por 8 sem más. Determinaciones: 1) Corporales: Peso (P) y Longitud (L). 2) En HMB: liberación basal de LHRH "in vitro" cada 7,5 min durante 3hs y estimulada con glutamato. 3) En suero: LH, FSH, T. Resultados: 1) P y L de EDT4 vs CT4 disminuyeron significativamente (p<0,001). 2) la

liberación basal de LHRH, frecuencia y amplitud de pulsos de ED vs C no variaron en los tiempos estudiados. En EDT4, la secreción estimulada de LHRH fue mayor que en el resto de los grupos ($p<0,05$). 3) En EDT4, LH, FSH y T vs CT4 fueron menores ($p<0,001$). Durante la realimentación, ED alcanzó el crecimiento compensatorio con normalización de los niveles séricos de LH, FSH y T. Estos resultados sugieren que en los animales EDT4 hay mayor sensibilidad de las neuronas LHRH a glutamato probablemente relacionada a una menor madurez del SNC para su edad cronológica, la que se normalizaría durante la realimentación. UBACyT O010.

POS 16-18

Efeito do Extrato da Casca de Uva vittis Labrusca (GSE) sobre a Resistência à Insulina em Ratos Espontaneamente Hipertensos (SHR). Giselle França da Costa*,Aníbal Sanchez Moura**, Érica Patrícia Garcia de Souza**, Roberto Soares de Moura*. *Departamento de Farmacologia, Laboratório de Farmacologia Cardiovascular e de Produtos Naturais, Centro Biomédico; **Departamento de Fisiologia, Laboratório de Fisiologia da Nutrição e Desenvolvimento, Centro Biomédico, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Estudos recentes mostram que os polifenóis contidos no vinho tinto proporcionam um efeito protetor em doenças crônicas como: distúrbios cardiovasculares, diabetes e resistência à insulina. Trabalhos em nosso laboratório com o extrato da casca de uva vittis Labrusca (GSE) mostraram que este aumenta a expressão da NOsintase modulada pelo aumento da PI3-K (fosfatidilinositol 3 quinase), que pode explicar seu efeito anti-hipertensivo em ratos (Soares de Moura *et al*., 2002)**.** O objetivo deste estudo foi verificar o efeito do GSE sobre a resistência à insulina de ratos espontaneamente hipertensos (SHR). Os grupos avaliados foram: SHR controle (tratados com água; n = 6) e SHR GSE (tratados com 200mg de GSE /kg/dia; n = 5) durante 30 dias. Foram verificados os níveis plasmáticos de glicose e insulina e a relação insulina/glicose (índice HOMA), onde obteve-se os seguintes resultados (média ± desvio padrão): insulinemia de jejum para o grupo SHR: 57,4±7,4 µUI/ml; grupo SHR-GSE: 58,7±7,4 µUI/ml; Glicemia de jejum grupo SHR: 138±19,2 mg/ml e SHR-GSE: 136±24,6 mg/ml. A relação insulina/ glicose grupo SHR: 395,8 ± 57,7 e SHR-GSE: 361± 37,6. Os resultados preliminares apontam para uma possível ação moduladora do GSE na resistência insulínica, que normalmente ocorre em ratos SHR, que poderia participar dos efeitos benéficos do hábito de ingerir diariamente, pequenas quantidades de vinho tinto.

POS 16-19

Cardiovascular responses to angiotensin II administration in chronic sucrose-fed rats. Renata P. D. Molle, Cassia Bergamaschi, Ruy R. Campos, Miriam S. Dolnikoff, Lab. Fisiologia Cardiovascular e Respiratória, Depto de Fisiología, Escola Paulista de Medicina, Univ Federal de São Paulo, Brazil.

Insulin resistance, hyperinsulinemia, hypertriglyceridemia, and mild hypertension have been induced in rats by sucrose feeding. These characteristics resemble those observed in humans with Metabolic Syndrome. In the present study we evaluated in control (C) and in sucrose-fed (SC) rats the effects of angiotensina (ANG) infusion on blood pressure (BP) and heart rate (FC). Wistar rats (150g) were treated for 30 days with 20% sucrose solution (SC, n=10) instead of tap water (C, n=6) and food *ad libitum*. Mean arterial pressure and heart rate were "on line" recorded using PowerLab system. The effect on BP and HR were evaluated after 0.001 (1° dose), 0.01(2° dose) and 0.1 (3° dose) µg/mL intravenous (iv) infusion (1mL/5min) of ANG for 15 min. Another group (SC, n=5; C=5) submitted 5 days before to canula implantation into the lateral ventricle (i.c.v.) was infused with the same doses of ANG before and after 5µL losartan (40µg/rat) or saline i.c.v administration. BP was higher in SC than in C (128±1 vs 102±4 mmHg). Three minutes after the 1° dose of ANG, BP increased 4% in SC and decreased 4% in C suggesting sucrose-fed rats were more susceptible to ANG stimulation. After ANG, the area under the curve of BP showed a larger increase in SC than in C (1° dose: 131.8%, $P<0.0002$; 2° dose: 22.2%, $P<0.0061$; 3° dose: 24%, $P<0.004$). HR did not change after any dose of ANG infusion, either in C and SC. The i.c.v. losartan administration completely blocked the BP increase after ANG infusion, in SC rats. In conclusion, the results showed that BP increase provoked by ANG iv infusion is higher in SC than in C rats and probably is mediated by central AT1 receptors. [Supported by FAPESP 05/55157-5, CNPq].

POS 16-20

New Model to study rat food intake. Mário José dos Santos Pereira, Paula Paraguassú Brandão, Alessandra Cordeiro de Souza, Vitor Lima Menezes, Aníbal Sanchez Moura. UERJ-IBRAG-DCF-Lab. Fisiologia da Nutrição e do Desenvolvimento

Obesity is mainly associated to nutritional disturbs. The quantitative evaluation of feeding behavior of experimental animals is still difficult to be performed. In order to study the process of hunger and satiety we developed a method were the most of important variables involved in this process were controlled. Method: The amount of ingested food, the frequency of feeding, the duration of each event and the interval among events was measured. The data were obtained by analysis of 14 hs duration night films, 4x accelerated, to obtain edited tapes of 3:30 hs of duration. Two groups of animals were used - Normal (N) and Obese (O), these with overweight relative minimum of 30%. The animals were disposed in individual plastic cages of 35x40 cm, with one of lateral side adapted with glass, making possible panoramic visualization of the interior of cage. The events registra-

tion was made with the use of adapted routine, for software of signs registration (Chart5 for Windows, AD Instruments, US). Results: It was observed that the obese group (n=5) eat more (8,7±0,6g vs. 11,2±0,7g; P=0,0101), more frequently (9,5±0,7 vs. 12,1±0,86; P=0,0287) with smaller interval among the events (68,0±7,22' vs. 47,1±5,6'; P=0,0297). Was not observed difference in the duration of the events (394,4±25,61 " vs. 427,8±32,07 "; P=0,4246). Conclusion: The model showed sharpness and precision in the characterization of the alimentary profile among the experimental groups. Financial Support by CAPES, CNPq.

POS 16-21

Phenotypic flexibility of the European quails gastrointestinal tract according to age. Duarte, CRA; Pinheiro DF; Luchiari AC; Vicentini-Paulino, MLM, Department of Physiology, Biosciences Institute, UNESP, 18607-000 - Botucatu, SP, Brazil

Introduction: It is known that animals subjected to feed restriction show adaptive responses that can affect different systems, including the gastrointestinal system. However, there are few studies about the refeeding effects of gastrointestinal tract, mainly in different aged animals, particularly in birds. In this study we investigated the gastrointestinal tract adaptation of male European quails (*Coturnix coturnix coturnix*) in response to refeeding after restriction in two ages: 45 and 90 days old. Methods: 42 days old animals (n=36, 239.19±20.89g) and 90 days old animals (n=36, 249.73±17.25g) were submitted to one of the following feeding systems: 70 % restricted for 7 days and refed *ad libitum* for 3 days or fed ad libitum during 10 days (control group). On the 10th day, we measured the quails body weight and the relative weight of small and large intestines, proventriculus, gizzard, pancreas and liver. The results were compared by Mann-Whitney test. Results: We observed that 42 days old quails submitted to feeding restriction showed relative weight of proventriculus, pancreas, liver and gizzard higher than other groups after refeeding (P<0.05). On the other hand, the 90 days old animals showed every parameter similar to control groups (P>0.05). Conclusion: The response of the quail gastrointestinal tract to refeeding changes according to age with the younger animals presenting higher flexibility ability.

POS 16-22

El lipopolisacarido (LPS) inhibe la salivación a través de la activación del sistema endocannabinoide en glándula submaxilar de rata. Prestifilippo JP[1], Fernández Solari J[1], McCann SM[1], Rettori V[1], Elverdin JC[2]. [1]Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos (CEFyBO-CONICET-UBA); [2] Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires.

En estudios previos hemos demostrado que durante la infección inducida por LPS se produce inhibición de la secreción salival. También hemos demostrado la presencia del sistema endocannabinoide (SE) en la glándula submaxilar (GSM) y que su activación inhibe la salivación. El LPS es capaz de activar el SE incrementando la producción del endocannabinoide anandamida. Nuestro objetivo fue demostrar si el SE podría ser el responsable, en parte, de la disminución de la salivación durante una infección. Los resultados fueron expresados como la media ± SEM, analizados por Student´s t-tests, considerándose significativo p<0.05. Se realizaron estudios sobre la actividad de la anandamida sintasa (AS) por técnicas de radioconversión de ^{14}C-ácido araquidónico y etanolamida en GSM obtenidas de ratas Wistar macho adultas (300gr) post inyección intraperiponial (ip) de LPS y controles. También se evaluó el efecto del LPS luego de la inyeción intraglandular (ig) de los antagonistas de los receptores cannabinoides (AM251 y AM630, antagonistas CB1 y CB2, respectivamente) sobre la secreción salival mediante curvas dosis respuesta a metacolina (MC 1, 3 y 10ug/kg). La inyección ip de LPS (5mg/kg/3h) inhibió la secreción salival estimulada por MC en todas las dosis estudiadas, (1ug/kg p<0.01; 3ug/kg p<0.01; 10ug/kg p<0.01). Este efecto inhibitorio de LPS fue bloqueado casi completamente cuando se inyectó ig AM251 (6x10-4) pero solo parcialmente por AM630 (6x10-4). Por otra parte la inyección de LPS (5mg/kg/3h) incrementó la actividad de AS (p<0.01) en la GSM. Estos resultados muestran que la inhibición de la secreción salival por LPS es mediada por un incremento en la producción de anandamida en la GSM actuando principalmente sobre los receptores CB1. (BID 1728 OC-AR PICT 14264; UBA OD-25).

POS 16-23

Variações Sazonais do Metabolismo Energético de espécies de Aeglídeos da Planície e do Planalto do Rio Grande do Sul (Crustacea, Anomura) Dutra, B. K.[1]; Fernandes, F. A.[1] Hack, C.S.[1]; Rossi, I.C.C.[1]; Bond-Buckup, G.[2]; Oliveira, G. T.[1*] 1.Lab. de Fisiol. da Conservação, Dep. de Ciências Morfofisiol., PUCRS- 2.Lab. de Carcinologia, Depto. de Zool., UFRGS, Brasil

Este trabalho objetiva caracterizar e comparar as variações sazonais do metabolismo de *A. platensis* (planície) e *A. camargoi* (planalto). Os animais foram coletados em Taquara (*A. platensis*) e em São José dos Ausentes (*A. camargoi*), sexados. A hemolinfa (H) foi coletada e os animais congelados. O hepatopâncreas (H), brânquias (B) e músculo abdominal (MA) foram removidos e acondicionados a -80°C. O glicogênio (GG) foi extraído pelo o método de Van Handel e determinado como glicose (G). Os níveis de G hemolinfática foram dosados através do método da G oxidase, os lipídios totais (LT) pelo método da sulfofosfovanilina e os triglicerídios (TGL) pelo kit da Labtest, os resultados foram expressos em mg/L. Os LT e TGL foram extraídos segundo Folch *et al.* e quantificados pelos mesmos métodos supracitados, os resultados teciduais foram expressos em mg/g. Para análise estatística utilizou-se a ANOVA-one way, com teste de Bonferroni e para comparação entre os sexos e as espécies, foi usado ANOVA-two-way, com p<0.05.

Aegla camargoi apresentou variação sazonal em todos os parâmetros analisados e tecidos. Os resultados indicam uma exploração diferencial entre os sexos; as concentrações de G, GG, LT e TGL correlacionam-se com o hábito alimentar, pois ocorrem picos destes metabólitos nos meses onde a alimentação é composta predominantemente de macrófitas. As variações da G em *Aegla platensis* parecem indicar que este crustáceo tem uma dieta rica em carboidratos. Os níveis de GG variaram significativamente apenas no H das fêmeas, já os LT variaram apenas no MA dos machos e por fim os TGL apresentaram variação em todos os tecidos, o que pode estar relacionado a padrão reprodutivo. Além da alimentação, a reprodução é um fator determinante na utilização das reservas destes animais o que conduz a um aumento na demanda energética e mobilização diferencial destas reservas.

POS 16-24

Efeito da suplementação alimentar associada ao exercício físico de natação sobre o crescimento de filhotes de *Calomys laucha*. Ana Cristina Kalb; Raquel Nunes Vidart de Oliveira; Bruna Vivian Brites; Roberta Daniele Klein; Mariangela Stephan; Camila Dalmolin & Elton Pinto Colares. Departamento de Ciências Fisiológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas: Fisiologia Animal Comparada. Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande do Sul, Brasil.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento dos filhotes de *Calomys laucha* quando submetidos ao exercício físico de natação associado a diferentes tipos de dieta. Os animais foram submetidos ao exercício físico durante seis semanas, com intensidade moderada durante uma hora diária. Após este período foram formados casais e suspensa a realização do exercício. O grupo I recebeu ração comercial para camundongos Sulina®; O grupo II recebeu ração comercial suplementada com óleo de girassol; o grupo III recebeu ração comercial suplementada com manteiga; e o grupo IV recebeu ração comercial suplementada com azeite de oliva. Todos os grupos receberam água *ad libitum*. Os casais receberam a dieta diariamente em porções de 10g/animal, e permaneceram no biotério sob condições controladas de temperatura 22 ± 2°C e fotoperiodo 12L/12E. Todos os filhotes foram pesados nas primeiras 12 horas posteriores ao nascimento, e no desmame. Os dados estão expressos em média ± erro padrão. O peso dos filhotes ao nascimento foi de 1,62±0,16g para o grupo I; 1,78±0,3g para o grupo II; 2,08±0,28g para o grupo III e 1,78±0,21g para o grupo IV. Já o peso dos filhotes no desmame foi de 8,46±0,8g no grupo I; 9,84±1,13 g no grupo II; 9,92±1,69g no grupo III e de 9,52±1,06g no grupo IV. O ganho de peso dos filhotes dos grupos I (6,83±0,78) foi significativamente menor do que a dos grupos II (8,05±0,99g) e III (7,84±1,5g) e IV (7,74±1,04) ($p<0,001$). Fêmeas exercitadas que não receberam suplementação tiveram filhotes que apresentaram menor crescimento.

POS 16-25

PKA inhibitor, H89, impaired the proliferation of 3T3-L1 fibroblasts that precedes the differentiation to adipocytes. Claudia Martini, María Victoria Plaza, María del Carmen Vila, Depto. de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Univ. De Buenos Aires, Argentina.

The excessive growth of adipose tissue in obesity has been suggested as expansion of adipocytes both in cell size and in cell number To better understand adipocyte physiology, *in vitro* cell models, such as 3T3-L1 fibroblasts, have been used. This is one of the most used preadipocyte models to study the adipogenesis process. After hormonal stimulation with a differentiation mixture that contains: insulin, a glucocorticoid, dexamethasone (DEX), and a cAMP phosphodiesterase inhibitor that increases intracellular cAMP, 3-isobutyl-1-methylxanthine(MIX)), postconfluent 3T3-L1 preadipocytes reenter the cell cycle undergoing which is called the mitotic clonal expansion. Whereas it is clear that the mitotic clonal expansion phase precedes the adipogenic gene expression program, whether this cell proliferation process is an obligatory step for the 3T3-L1adipocyte differentiation process, is still not clear. In order to evaluate the importance of MIX in the differentiation mixture, H89, an inhibitor of the cAMP dependent kinase, PKA, was added to 3T3-L1 fibroblasts one hour prior to the addition of the differentiation mixture. It was found that this treatment inhibits the proliferation (measured by counting the number of cells) that precedes the differentiation process. On the other hand, the pre-treatment with H89 did not affect the differentiation of 3T3-L1 fibroblasts to adipocytes, evaluated by oil-red O staining of the triglycerides accumulated in the cells. According to these results cAMP signalling is important for mitotic clonal expansion but not for differentiation. In addition these results indicate that, proliferation is not essential for adipogenesis.

POS 16-26

Tolerância à glicose em fêmeas caninas durante o ciclo estral e na condição hiperplasia endometrial cística - piometra. Álan Gomes Pöppl[1], Tatiane Mottin[1], Fernando Espinosa[1], Karine Neves[1], Cinthia Brum[1], Camila Lasta[2], Félix Díaz González[2], Luiz Carlos Kucharski[1], Roselis Silveira Martins da Silva[1]. [1]Lab.de Metabolismo e Endocrinologia Comparada, Depto de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde. [2]Lab. de Análises Clínicas Veterinárias, Faculdade de Medicina Veterinária - UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil.

A maior prevalência de Diabetes mellitus (DM) em fêmeas da espécie canina é atribuída à exposição crônica à progesterona durante o diestro. Fêmeas diabéticas não castradas apresentam maior resistência insulínica no estro e diestro. A hiperplasia endometrial cística - piometra (HEC-P) representa potencial causa de resistência insulínica em decorrência de seus

componentes hormonais, inflamatórios e infecciosos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta ao teste intra-venoso de tolerância à glicose (IVGTT) em diferentes grupos: cadelas em anestro (n = 6), estro (n = 5), diestro (n = 8), com hiperplasia endometrial cística (n = 3) ou com piometra (n = 4). Os grupos foram divididos conforme resultados de citologia vaginal, hemograma e ultra-som. Após jejum de 8 horas procedeu-se acesso na veia cefálica, seguido de medida da glicemia basal. Uma dose de 500 mg/kg de peso de glicose foi administrada em tempo inferior a trinta segundos e medidas da glicemia foram realizadas após 3, 5, 7, 15, 30, 45 e 60 minutos da administração. Um teste de ANOVA de uma via seguido de teste de Tukey, para cada um dos tempos estudados entre os grupos, mostrou diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo piometra e os demais grupos nos tempos 30, 45 e 60 minutos após a administração da glicose. Contudo, não foi observada diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos anestro (controle), estro, diestro e HEC nos diferentes tempos de IVGTT estudados. Após tratamento da piometra (mínimo dois meses) observou-se reversão no quadro de intolerância à glicose. A piometra representa um fator de risco para desenvolvimento de DM pelo desenvolvimento de intolerância à glicose. Apoio CNPq.

POS 16-27

Testosterona y aclimatación a la altura. Elydia Mujica(1,3), Haydee Zuñiga(1), Hugo Cebreros(1,3), Javier Torres(1,3), José Aliaga(4), Hernán Ramos(3), Sergio Ronceros(2), Walter Ponciano(1,3), Manuel Ortiz(1,3), Julio Huamán(3), Rogelio Pinto(1,3). Instituto Nacional de Biología Andina(1), Instituto de Investigaciones Clínicas(2), Sección Fisiología(3) de la Facultad de Medicina. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias y Filosofía. UPCH(4). Lima, Perú.

Se estudiaron dieciocho sujetos varones sanos voluntarios entre 20 a 30 años de edad, naturales del nivel del mar, doce fueron llevados a una altura de 3280 m y seis fueron llevados a una altura de 4540 m donde permanecieron tres días. En las primeras horas de la mañana y en ayunas se tomó una muestra de sangre de la vena del antebrazo dos días antes del viaje y los días 1, 2, 3 en la altura, analizándose testosterona y algunos parámetros fisiológicos indicadores de aclimatación a la altura como son: Saturación arterial de oxígeno, frecuencia respiratoria, presión arterial y hematocrito. Se contó con el consentimiento informado de los participantes. En los sujetos llevados a 3280 m no se observaron diferencias significativas en los valores de testosterona sérica en la altura respecto a los valores al nivel del mar pero si en los valores de saturación de oxígeno arterial, presión arterial y hematocrito. En los sujetos llevados a 4,540 m observamos diferencias significativas en los valores de testosterona, saturación de oxígeno arterial, presión arterial y hematocrito en la altura respecto al nivel del mar y una relación entre testosterona y parámetros indicadores de aclimatación. La testosterona favorece el proceso de aclimatación a la exposición aguda a las grandes alturas (4540 m), no así a alturas menores (3280 m).

POS 16-28

Regulación por SPI de los niveles de ARNm de la ferroquelatasa, en un modelo murino de diabetes tipo I Leda Oliveri [(1)]; Roberto Meiss [(2)]; Alcira Batlle [(1)]; Esther Gerez [(1). (1)] Centro de Investigación sobre Porfirinas y Porfirias (CIPYP) CONICET, Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires, Argentina . [(2)] Academia Nacional de Medicina

La diabetes produce cambios en el metabolismo de las hemoproteinas, probablemente a través de alteraciones en las enzimas hepáticas involucradas en la biosínteis del hemo. La ferroquelatasa (FQ), última enzima de esta vía, cataliza la quelación del ión ferroso en la protoporfirina IX para formar el hemo. El objetivo de este estudio ha sido analizar la transcripción de la FQ hepática en un modelo de diabetes murina inducida por estreptozotocina (STZ). La diabetes fue inducida mediante una única dosis de STZ (170 mg/Kg, i.p.), la instauración del estado diabético se confirmó mediante la medición de los niveles de glucosa en sangre y orina en el día 16 posterior al tratamiento con STZ. Los niveles de ARNm de FQ se incrementaron inmediatamente después de la aparición del estado diabético alcanzando niveles máximos 8 días después. Ese aumento se mantuvo a lo largo de todo el período de estudio (26 días). El vanadato, un conocido agente insulino-mimético, administrado en dosis de 0.2 mg/ml en el agua de bebida, previno tanto la hiperglicemia como el aumento en los niveles de ARNm de FQ causados por el tratamiento con STZ. Dado que la región regulatoria 5' del gen de la FQ de ratón contiene sitios Sp1 involucrados en la activación de la transcripción, se llevó a cabo la medición de los niveles de Sp1 y Sp1 glicosilado en animales tratados con STZ o STZ+vanadato. Los resultados obtenidos utilizando la técnica de Western-blot demostraron que los niveles de Sp1 y Sp1 O-glicosilado se incrementaron en el hígado de los animales diabéticos. Por otra parte, el vanadato evitó tanto la sobreexpresión como la hiperglicosilación de Sp1. Estos resultados sugieren que Sp1 podría estar involucrado en los cambios observados en la expresión de la FQ como consecuencia de la instauración del estado diabético.

POS 16-29

Evaluación de la respuesta fibrogénica en el hígado graso experimental. Margarita Pizarro, Nancy Solís, Pablo Muñoz, Luigi Accatino, Marco Arrese. Departamento de Gastroenterología. Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile.

El hígado graso (esteatosis) puede progresar a fibrosis e inflamación (esteatohepatitis) y, posteriormente, a cirrosis, por mecanismos aún no determinados. Se ha sugerido que el hígado esteatósico es más susceptible a una

segunda injuria, que gatillaría la respuesta fibrogénica y el progreso de la enfermedad. **Objetivo**: evaluar la respuesta fibrogénica en un modelo experimental de esteatosis hepática y compararla con la observada en hígados normales**. Métodos**: se indujo esteatosis, en ratas Sprague-Dawley, mediante la administración de una dieta deficiente en colina (DDC), por 8 semanas. Otro grupo, recibió dimetilnitrosamina (DMN, 10 μg/g peso, 3 veces por semana) para inducir fibrosis hepática. A un tercer grupo, se le dio DDC + DMN (entre las semanas 5 y 8). El grupo control fue alimentado con dieta normal (DSC). Se evaluó la respuesta fibrogénica mediante análisis histológico, expresión de TGFβ y procolágeno I (por PCR semicuantitativo) y contenido hepático de hidroxiprolina. **Resultados**: la administración de DDC determinó el desarrollo de esteatosis y aumento de transaminasas séricas, sin hiperglicemia. La DMN, produjo fibrosis, caracterizada por sobreexpresión de TGFβ y procolágeno I y aumento de hidroxiprolina hepática. La administración conjunta de DDC y DMN no aumentó el grado de fibrosis, comparada con los animales tratados sólo con DMN. **Conclusión**: En este modelo dietético, DDC, la presencia de esteatosis hepática no condiciona una mayor respuesta fibrogénica que la observada en animales controles. Nuestros resultados sugieren que alteraciones metabólicas, como resistencia a insulina e hiperleptinemia, observadas en esteatosis en humanos y ausentes en este modelo, serían relevantes en el desarrollo acelerado de fibrosis en la esteatosis hepática. (Fondecyt 1050780).

POS 16-30

Overfeeding during lactation causes obesity and insulin resistance in Swiss mice.Mariana Renovato Martins, Giselle França da Costa, Aníbal Sanchez Moura. Laboratório de Fisiologia da Nutrição e do Desenvolvimento, Dep. de Fisiologia, Instituto de Biologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

The hormone secretions seems to indicate an important connection between the nutritional disturbs in the early life and the establishment of diseases in adulthood (Moura A.S. *et al; 2002*). Insulin is described as a potential mediator between the intrinsec responses to nutritional state and the development and function of different organs. Nutrition during lactation modulates insulin action on glucose transport and metabolism. To study the influence of nutritional disturbs during lactation we reduced the number of pups per dams during this period and induced early postnatal overnutrition. The primary litter size was adjusted on the tird day of life to only 3 mice per litter (overfeed group; O-group). These animals were compared with a control group (C-group) with normal litter size. As the result to the nutritional alterations, the offspring mice from overfeed group showed an increased body weight of about 26,5% compared to the control group at 90-120 days of age (The values are expressed in Mean±SD; O-group: 58,32±4,35; C-group: 42,86±1,62). To study the glucose tolerance test (GTT) we monitored blood glucose 30 minutes before and at 30, 60, 90 minutes after injection of 1g D-glucose/Kg body wt i.p.. In control group we observed, at 60 minutes, a glucose blood reduction ($t_{0:}$ 113,5; t_{30}: 211,75; $t_{60:}$ 154,75), which returned to basal levels at 90 minutes (t_{90}:111,0). The overfeed group maintained high glucose blood levels until 90 minutes (t_{30}:296,6; t_{60}:296,2; t_{90}:257,8), showing that animals were insulin resistant compared to the control group. Our preliminary results demonstrate that the presented model may be useful to study diabetes and others obesity associated diseases. Support: CAPES.

POS 16-31

Cntf promotes rat islets survival. Rezende, L.F.; Stoppiglia, L.F.; Souza, K.L.A; Negro, A.; Langone, F and Boschero A.C.

Introduction: Cilliary Neurotrophic Factor (CNTF) is a cytokine widely known for its neurotrophic effects, such as survival and/or differentiation factor. CNTF has many effects on pancreatic islets, which express receptors for Nerve Growth Factors (NGFs), are Richly innervated and may undergo neurotypic responses. CNTF is found in Schwann cells in the peripheral nervous system and in pancreatic islets, exerts action on non-neuronal cells and may have a paracrine function. For these reasons we decided to study the possible CNTF effects on rat pancreatic islets differentiation and/or survival. Material and Methods: Isolated pancreatic islets from neonate rats were isolated by colagenase method and kept in culture for 3 days with or without 20ng/ml CNTF. We evaluated insulin secretion by radio-immune-assay (RIA), general metabolism by MTS, glucose uptake by measure of $^{14}CO_2$ released from marked glucose, protein levels of proteins fundamental to the secretory and survival processes by Western-Blot, mRNA by rt-PCR and Caspase-3 activity by Espectrofotometry. Results: CNTF impaired islets insulin secretion and general metabolism, whereas having no effect over glucose metabolism, mRNA and protein levels of proteins essential to secretory process, but greatly increased mRNA and protein levels of CX36 and BCL-2, proteins related to cell survival, as well as reduced caspase-3 activity and therefore apoptosis. Conclusion: Our results suggest that CNTF has no effect over islets differentiation, but rather acts as a survival factor by increasing the expression of anti-apoptotic proteins such as BCL-2 and therefore preventing apoptosis, as evidenced by a reduced caspase-3 activity.

POS 16-32

Efeito da Hipóxia Sobre o Metabolismo do Lactato no Músculo de Caranguejos *Chasmagnathus granulata*. José Eduardo S. Maciel, Luiz C. Kucharski, Roselis S.M. da Silva. Depto. de Fisiologia, UFRGS, POA, RS, Brasil.

Trabalho anterior demonstrou a participação da via glioconeogênica hepatopancreática na metabolização do lactato durante a anoxia e na fase de recuperação pós-anoxia (Oliveira et al., 2004). Este trabalho teve como objetivo determinar os valores de glicose e lactato

hemolinfáticos, os níveis de glicogênio muscular, a atividade gliconeogênica e neoglicogeniogênica no músculo durante a hipóxia ambiental e a recuperação pós-hipóxia. Os animais foram divididos em três grupos: 1) controle (21% de O_2 na água); 2) hipóxia (4,5% de O^2na água) de 8 horas; 3) recuperação (21% de O_2 na água) de 3, 24 e 48 horas pós-hipóxia. As concentrações de glicose e de lactato hemolinfático foram determinadas, respectivamente, por *kits* Enz-Color e Boehringer. O glicogênio muscular foi extraído pelo método de Van Handel (1968) e quantificado como glicose após hidrólise ácida. A gliconeogênese e a neogliconeogeniogênese foram avaliadas pela conversão de 0,2 μCi ^{14}C da L-lactato mais 15 mM L-lactate em ^{14}C-glicose segundo Oliveira et al.,(1997). A hipóxia aumentou os valores de glicose e de lactato na hemolinfa e diminuiu os níveis de glicogênio muscular quando comparados aqueles dos animais controle . A glicose e o lactato na hemolinfa retornaram a valores semelhantes aos observados nos animais controle somente após 24 horas e 48 horas de recuperação pós-hipóxia, respectivamente. Contudo, os níveis de glicogênio muscular não retornaram a valores semelhantes ao do grupo controle às 48 horas de recuperação. A atividade gliconeogênica é maior nos animais em hipóxia quando comparada aos animais controle . Após 24 horas de recuperação a atividade gliconeogênica muscular retornou a valores semelhantes aqueles do grupo controle. A atividade da via neoglicogeniogênica foi maior nos animais após 48 horas de recuperação quando comparada àquelas dos grupos controle e hipóxia. A gliconeogênese e a neoglicogeniogênese muscular estariam envolvidas na metabolização do lactato durante a hipóxia e a recuperação pós-hipóxia.

POS 16-33

Daño hepático inducido por sales biliares en dos cepas de ratones. Nancy Solís, Margarita Pizarro, Luigi Accatino, Marco Arrese. Departamento de Gastroenterología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

El daño hepático inducido por sales biliares (SB) es un fenómeno relevante para las enfermedades hepáticas colestásicas. Los mecanismos involucrados son múltiples e incluyen la alteración de las membranas y señales celulares y la promoción de apoptosis. La severidad de la injuria inducida por SB podría estar modulada por factores genéticos. **Objetivo: a)** determinar si existen diferencias en la susceptibilidad a la injuria hepática por SB entre dos cepas de ratones y b) caracterizar la expresión génica global, en respuesta a la administración de SB, usando estudios de microarray. **Métodos**: ratones Balbc y C57Bl6 fueron alimentados con ácido quenodeoxicólico al 1% p/p por 5 días. Se determinaron los niveles séricos de aminotransferasas (ALT y AST) y SB. Además se midió el flujo biliar y la excreción biliar de SB y glutatión (GSH). Mediante inmunoblot se analizaron la masa proteíca de los principales transportadores hepatobiliares. Los estudios de microarray se realizaron con cDNAs de grupos separados de ratones (n=3). **Resultados:** se encontraron marcadas diferencias entre ambas cepas de ratones. Los niveles de ALT, AST y SB en suero fueron significativamente mayores en los ratones C57Bl6 que en los BalBc, al igual que el flujo biliar y la excreción de SB. Los análisis de inmunoblot de los transportadores hepatobiliares mostraron la respuesta esperada para el tratamiento con SB, en los dos grupos de animales. Los estudios de microarray presentaron diferencias notables entre ambas cepas estudiadas (usando el criterio de 5-veces cambio en expresión génica) con un número significativamente mayor de genes inducidos en los ratones C57BL6. **Conclusión**: los ratones C57Bl6 y BalBc exhiben marcadas diferencias frente al daño inducido por SB, probablemente debido a la generación de distintos metabolitos tóxicos. (FONDECYT 1050780).

POS 16-34

Estudio de algunos parámetros hemorreológicos en síndrome metabólico. [1]Spengler, M. Isabel; [1]Rasia, Marta, [1]Jaurretche, Sebastián; [1]Kuzmicz, Gisella, [2]Bocanera, Roberto. [1]Cátedra de Física Biológica, Facultad de Ciencias Médicas. UNR. [2]Centro de Estudios del Climaterio del Hospital Provincial del Centenario. Rosario. E-mail: isabelspengler@hotmail.com

En la definición de Síndrome Metabólico (SM) se consideran cinco variables: obesidad abdominal, niveles elevados de triglicéridos, bajos niveles de HDL-colesterol, altos valores de glucosa en sangre y presión sanguínea elevada; se considera que una persona padece SM si tres o más de estos valores sobrepasan los umbrales establecidos. El objetivo del trabajo fue realizar las determinaciones pertinentes para identificar entre las pacientes que concurren al Centro de Estudios del Climaterio del Hospital Centenario las que presentaban SM. Con previo consentimiento de las 18 pacientes, se tomaron muestras sanguíneas en las que se determinaron agregación eritrocitaria (AE), viscosidad plasmática (η_P) y fibrinógeno plasmático (F). Las determinaciones se repitieron en 17 controles normales de similar edad. La AE se estimó midiendo la variación en el tiempo de la luz transmitida a través de una muestra de sangre entera. Se determinaron dos parámetros del proceso: s_0/n_0 que estima el tamaño promedio de los agregados, y $2k_2n_0$ que estima la velocidad inicial del proceso. La η_P se midió con viscosímetro rotacional Wells-Brookfield cono plato y el F**,** por método gravimétrico. Los resultados mostraron que las pacientes con SM presentaron valores de $2k_2n_0$ significativamente mayores que los controles (1,17± 0,37 vs 0,58±0,19; $p<0,01$), los valores de s_0/n_0 no fueron significativamente diferentes. También la viscosidad plasmática resultó mayor en las pacientes (1,59±0,05 vs 1,50±0,04; $p<0,05$), al igual que el fibrinógeno plasmático (427,36±62,93 vs 299±35,58; $p<0,001$). Además se encontró una correlación significativamente positiva entre el F y la η_P ($r=0,55$; $p<0,05$)

y entre el F y $2k_2n_0$ (r=0,56; p<0,05). Estos resultados evidencian que, en las pacientes con SM, el fibrinógeno plasmático contribuye a aumentar la viscosidad plasmática y la agregación eritrocitaria, esto podría explicar en parte, el riesgo cardiovascular presente en síndrome metabólico.

POS 16-35

Atividade tirosina quinase do receptor insulínico e captação de aminoácidos neutros e de glicose em músculo de *Chasmagnathus granulatus*: diferenças sazonais. [1]Sandra C. Valle, [1]Gabriela L. Pedroso, [1]Aline Rodrigues, [1]Grabriel Machado, [2]Márcia Trapp, [1]Luiz C. Kucharski e [1]Roselis S.M. da Silva. [1]Depto. Fisiologia ICBS-UFRGS, POA, RS, Brasil, [2]Centro Universitário Lasalle, Canoas, RS, Brasil.

Em seu habitat o caranguejo estuarino *Chasmagnathus granulatus* é exposto a variações sazonais de: salinidade, temperatura ambiente, teor de O_2 dissolvido na água, composição da dieta e fotoperíodo. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito da sazonalidade sobre a atividade tirosina quinase do receptor insulínico e a captação de aminoácidos (aa) neutros e de glicose em músculo mandibular de *C. granulatus*. Durante um ano, a cada estação, cerca de 50 caranguejos machos foram coletados do estuário de Tramandaí-RS. Para avaliar a captação de aa neutros e de glicose *in vitro*, 20 animais foram acondicionados em caixas de plástico com água da lagoa e conduzidos até o laboratório onde permaneceram à temperatura ambiente e fotoperíodo natural até o experimento; realizado 12-18 h após a coleta. A determinação da captação de glicose e de aa foi realizada segundo Schein et al. (2004) e Kucharski et al. (2002). A atividade tirosina quinase do CGILR (*Chasmagnathus granulatus* Insulin Like Receptor) foi determinada segundo método descrito por Trapp (2005) e Kucharski (1997). A captação de ^{14}C-MeAIB ([1-^{14}C]-ácido metil aminoisobutírico) foi maior (P<0,05) no outono, no inverno e no verão quando comparada àquela obtida na primavera. Já a captação de ^{14}C-DG ([1-^{14}C] 2 deoxi-D-glucose) foi maior (p<0,05) no outono e no inverno quando comparada àquela nas outras duas estações. A atividade basal da tirosina quinase do CGIRL foi maior (p<0,05) no outono e no verão. No entanto, neste tecido a insulina bovina não estimulou a atividade tirosina quinase do CGILR. Os resultados de nosso trabalho mostram que as mudanças sazonais do meio ambiente alteram o transporte de aa e de glicose e a transdução do sinal insulínico no tecido muscular de *C.granulatus*. APOIO: CNPq, CAPES.

POS 16-36

Obesity, Pregnancy, glucose tolerance and insulin secretion in female rats fed a western diet Vanzela, E.C.**; Bonfleur, M.L.**; Boschero, A.C. Dept. Physiol. Biophys. IB/UNICAMP, Campinas SP, Brazil

Introduction: Obesity is considered a main risk factor for gestational diabetes mellitus. We have studied here the insulin secretion in impaired glucose tolerance pregnant obese rats fed a western diet for 14 weeks. **Methods**: Females Wistar rats (70 days old) were mated after 12 weeks of treatment. After 15 days of the onset of pregnancy, an ipGTT was done and the rats sacrificed on the next day. The islets were isolated by collagenase digestion of the pancreas and challenged to various stimuli for 90 min. Insulin was measured by radioimmunoassay. **Results and Discussion**: At the end of diet period, an impaired glucose tolerance was observed in the obese pregnant compared with non-pregnant and pregnant control rats and with non-pregnant obese rats. Obesity enhanced plasma insulin levels in both fasted and fed rats, and consequently insulin/glucose index values were also elevated. The dose-response curve to glucose was shifted to the right in islets from obese non-pregnant compared with control islets. Pregnancy shifted to the left the dose response curve in both obese and non-obese rats. Obesity decreased insulin secretion induced by high concentrations of K^+, leucine, arginine or tolbutamide whereas pregnancy restored the insulin secretion in islets from obese rats (increased the secretion by 156%, 770%, 341% and 290%, respectively compared with obese non-pregnant). **Conclusion**: Obesity impaired insulin secretion. Pregnancy in obese rats almost restored insulin secretion but reduced glucose tolerance. **Support**: Fapesp, Capes e CNPq.

POS 16-37

Efeito da dieta sobre o crescimento de filhotes de *Calomys laucha*. Raquel Nunes Vidart de Oliveira & Elton Pinto Colares. Departamento de Ciências Fisiológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas: Fisiologia Animal Comparada. Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande do Sul, Brasil.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento dos filhotes de *Calomys laucha* quando submetidos a diferentes tipos de dieta. Foram acompanhados, durante 100 dias, 40 casais divididos em quatro grupos. O grupo I recebeu ração comercial para camundongos Sulina®; O grupo II recebeu ração comercial suplementada com óleo de girassol; o grupo III recebeu ração comercial suplementada com manteiga; e o grupo IV recebeu ração comercial suplementada com azeite de oliva. Todos os grupos receberam água *ad libitum*. Os casais receberam a dieta diariamente em porções de 10g/animal, e permaneceram no biotério sob condições controladas de temperatura 22 ± 2°C e fotoperiodo 12L/12E. Durante o experimento ocorreram de 3 a 4 partos por casal. Todos os filhotes foram pesados nas primeiras 12 horas posteriores ao nascimento, e no 21° dia quando foram pesados e separados dos pais. Os dados estão expressos em média ± erro padrão. O peso dos filhotes ao nascimento foi de 1,69±0,02g para o grupo I; 1,74±0,02g para o grupo II; 1,70±0,02g para o grupo III e 1,62±0,01g para o grupo IV. Já o peso dos filhotes no desmame foi de 8,81±0,08g no grupo I; 10,01±0,11g no grupo II; 9,68±0,14g no grupo III e de 8,45±0,10g no grupo IV. O ganho de peso dos filhotes

dos grupos I (7,11±0,09g) e IV (6,82±0,10g) foi significativamente menor do que a dos grupos II (8,28±0,11g) e III (8,06±0,15g) ($p<0,001$). As dietas ricas em ácidos graxos poliinsaturados (óleo de girassol) e em ácidos graxos saturados (manteiga) aumentaram o crescimento dos filhotes de *C. laucha*.

POS 16-38

Pancreatic islets from MSG-obese rats transplanted to diabetic rats correct hyperglycemia. Ricardo Caio Ávila Gomes, Diego Neves da Rocha, Fernanda Taís Mecabô, Paulo Cezar de Freitas Mathias, Renato Chaves Souto Branco, Sabrina Grassiolli. -Lab. Biologia Celular e Secreção, Depto. Biologia Celular e Genética, Univ. Estadual de Maringá, Brazil.

Obese rats obtained neonatal treatment with L-monossodium glutamate (MSG) are hyperinsulinemic. Their pancreatic islets are more responsive to epinephrine, and less to glucose and acetylcholine, than islets from lean animals. Our goal was to investigate whether the obese rats islets dysfunction is reversible.Obesity was induced in the 5 first days of life by administration of MSG (4g/Kg bw). Controls received saline. Islets from adult rats (90 days old) from both groups were isolated with the collagenase technique. Diabetic rats were obtained by streptozotocin (STZ) treatment, 80 mg/kg. STZ rats, who presented fasting glycemia of 450 mg/dl, were used as recipients to the transplants. Islets from obese or lean rats were infused (600/animal) into the diabetic rats livers through the portal vein. Tansplanted rats were submitted to ivGTT 4 days after surgery. Islets transplanted from both origins reduced fasting glycemia by 3 fold when compared to untransplanted STZ rats, $p<0.005$. Using the area under the ivGTT curve, glycemia of transplanted rats with islets from both groups was 56% higher than no normoglycemic rats $p<0.05$. Insulinemia was 70% lower than normoglycemic rats, $p<0.05$. In spite of low islet mass used to transplantation, results suggestthat, independently of their type the islets were able to correct the fasting glycemia; however, the transplant was not adequate to fully control glycemia after a glucose load.Supported by: CNPq, CAPES and Araucária Foundation- Brazil.

POS 16-39

***In vivo* and *in situ* effects of pentoxifylline on the protein metabolism in skeletal muscle of adult diabetic rats.** Neusa Maria Zanon, Amanda Martins Baviera, Elza Aparecida Filippin, Luiz Carlos Carvalho Navegantes, Renato Hélios Migliorini, Isis do Carmo Kettelhut. Departments of Biochemistry/Immunology and Physiology, School of Medicine of Ribeirão Preto - USP, Brazil.

Pentoxifylline (PTX), a cAMP phosphodiesterase inhibitor, induces reduction in the rate of overall proteolysis by decreasing the participation of Ca^{2+}- and ATP-proteasome-dependent proteolytic systems in muscles from diabetic rats. The aim of the present work was to investigate the *in vivo* and *in situ* effect of PTX on muscle protein metabolism of normal and diabetic adult rats by using a microdialysis technique. Male Wistar rats (≅230g) were injected with saline (N group) or aloxan (40mg/kg, *i.v.*-D group); N and D groups were treated with saline (controls) or PTX (100mg/kg, *s.c.*) during 4 days (started one day before the aloxan injection). After 3 days of diabetes, animals were anesthetized and a microdialysis probe was inserted in *tibialis anterior* muscle; the catheter was connected a microinjection pump and the system was perfused (1μL/min) with 1% BSA, 50μM tyrosine and 1mM glucose. After an equilibration period of 30 min, samples of dialysate were collected during 90 min. In studies *in situ*, 10mM PTX was added to perfusion solution. Catheters were equilibrated using an internal reference calibration technique. The levels of tyrosine in dialysate of muscles from D rats increased 79%; the PTX treatment and the drug added to perfusion solution reduced tyrosine levels (61% and 54%, respectively). The tyrosine values were (nmol/mL): 30.70±2.46 (N); 54.87±3.74 (D); 21.53±1.99 (D+PTX *in vivo*); 25.33±7.92 (D+PTX *in situ*). *In vivo* and *in situ* PTX reduced the tyrosine release from skeletal muscles of adult rats, suggesting the anti-proteolytic effect of PTX in muscles from diabetic rats. FAPESP, CNPq.

POS 16-40

Efeitos da suplementação crônica de fibras solúveis sobre a quantidade de glicogênio muscular e concentração de corticosterona de ratos treinados. Donatto F F, Libardi J M, Possignollo L F, Prestes J, Krauss C, Dias R, Frollini A, Verlengia R, Palanch A C, Cavaglieri C R Mestrado em Educação Física - UNIMEP - Brasil

Introdução: O efeito ergogênico da ingestão de carboidratos em exercícios de longa duração já foi comprovado, porém, ainda não está claramente elucidada a questão da ingestão crônica de alimentos ricos em fibras solúveis e suas influências no aumento da performance em exercícios de longa duração. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de farelo de aveia sobre as reservas musculares de glicogênio de ratos submetidos à natação. Metodologia: Ratos Wistar (n=18) foram divididos em dois grupos, um recebendo uma ração controle (EX) e outro recebendo uma ração suplementada com 30% de fibras solúveis oriundas do farelo de aveia (EXA). Após oito semanas de treinamento, grupos experimentais foram submetidos a um teste de exaustão, para uma posterior coleta dos tecidos musculares e soro sanguíneo, sendo analisado o conteúdo de glicogênio e as concentrações de corticosterona circulantes. Todos os dados foram expressos como média ± Erro Padrão da Média (EPM), sendo a análise estatística realizada pelo teste ANOVA. Posteriormente, aplicando-se teste de Tukey, assumindo a diferença estatisticamente significativa quando ($p<0,05$). Resultados: Com relação ao conteúdo de glicogênio do músculo sóleo, o grupos EXA apresentaram um aumento de 59,4% em relação

ao grupo EX. As concentrações de corticosterona no grupo EX foram 36% maiores em comparação com o grupo EXA.Conclusão: Diante dos resultados obtidos em nosso estudo, concluímos que a ração rica em farelo de aveia, fonte de fibras solúveis, influenciou no conteúdo de glicogênio muscular e atenuou o aumento das concentrações de corticosterona, refletindo em um maior tempo de natação até o limite de exaustão.

POS 16-41

Inability of triiodothyronine to revert the excessive rigidity of bone tissue induced in the rat by hypophysectomy. María I. Conti*, María I. Olivera*, María P. Martínez*, Patricia Mandalunis**, Carlos E. Bozzini* ***, Rosa M. Alippi*. Cátedras de Fisiología* e Histología y Embriología**, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires; y Bio Sidus SA***, Buenos Aires, Argentina.

Studies from this laboratory have shown that hypophysectomy (HX) in the rat induces the transformation of the juvenile femur in a type of adult one characterized by its high mineral density and its unusual large modulus of elasticity (E), in spite of cessation of growth. Geometrical bone properties (cortical bone area and bending cross sectional moment of inertia) are also affected. These bone properties are presumably responsible for the unnecessary and marked increment on the "load-capacity" suffered by the femur. We have also observed an increased E in rats made hypothyroid by PTU administration. This prompted us to analyze the biomechanical behavior of the diaphyseal femoral cortical bone in female Sprague-Dawley rats that were HX when aged 30 d and injected with 6 μg of T_3 (5 x wk x 7 wk) 3 mo later. Controls were untreated HX rats. Results were as follows (HX vs HX+T_3): growth plate cartilage (84.2±14.7-65.9±5.4μm); cortical wall thickness (0.37±0.027-0.38± 0.07mm); bone volume (4.77±1.32-4.15±2.5%); bone mass (397.8±2.33-395.8±4.79 mg Ca); fracture load (56.7±10.6-57.3±12.3N); diaphyseal stiffness (153.8±23.0-152.5± 24.4N/mm); xCSMI (51.3±11.8-46.7±4.1mm^4; cortical bone area (25.7±3.1-23.0±2.2mm^2) and E (100.0±24.66-101.44±11.45N/mm^2). Data indicate that T_3 administration, under the conditions of the present experiment, is unable to revert the excessive rigidity of femoral diaphysis induced by HX. UBACYT O-011, CONICET PIP5501.

POS 16-42

Effects of chronic mild stress on the body weight of rats. Ferreira, R; Costa, R; Tamascia, ML; Neves, VJ; Marcondes, FK. FOP/UNICAMP.

Stress has been recognized as a risk factor for obesity **Purpose:** To study the effects of chronic mild stress (CMS) on the body weight of rats. **Methods:** Sprague-Dawley rats (2m.o.) divided into Control and CMS groups. Over the experimental protocol (7 weeks), the food intake (Kcal), body weight gain (g) and food efficiency (body weight gain/ food intake - g/Kcal) were analyzed weekly. CMS was performed over three weeks (3rd, 4th and 5th weeks experimental protocol) and included 3 series of alternating periods of different stressors: immobilization, overnight of food and water deprivation immediately followed by 2h of access to restricted food or 1h exposure to an empty water bottle, overnight period of housing in a soiled cage or reversed light-night cycle. At week 8, the rats were sacrificed, the epididymal and perirrenal fat were isolated and the total fat pad was calculated. Acorbate and cholesterol adrenal gland content was determined as stress index. Data were analyzed by Two-way ANOVA and post-hoc Tukey ($p<0.05$). **Results:** During CMS (weeks 3, 4 and 5), stressed rats presented an increased in the food intake (28%) and a decreased in the body weight gain (66%) and food efficiency (72%) compared to the control group ($p <0.05$). However, at the moment of sacrifice, there was no difference in the body weight between stressed and control rats. CMS reduced the ascorbate (42%), cholesterol (35%) adrenal contents and total fat pad (34%) compared to the control group. **Conclusion:** These findings suggest that CMS affects the body weight control through food intake and energy expendure regulations.

POS 16-43

Effect of pentoxifylline treatment on protein degradation in skeletal muscle from diabetic rats. Lidiany Góis; Amanda M. Baviera; Neusa M. Zanon; Ana Letícia G. C. Maragno; Marcelo D. Gomes; Luis Carlos C. Navegantes; Renato H. Migliorini; Isis C. Kettelhut. Departaments of Physiology and Biochemistry, Faculty of Medicine, USP, Ribeirão Preto, Brazil.

We investigated the in vivo effect of pentoxifylline (PTX; cAMP-phosphodiesterase inhibitor) on the rate of overall proteolysis and on the activity of proteolytic systems in extensor digitorum longus (EDL) muscles from normal and acutely diabetic rats by measuring the rate of tyrosine release. Methods and Results: Male Wistar rats (70-80g) were injected with streptozotocin (135mg/STZ/kg, i.v.). Diabetic and normal rats treated with PTX (100mg PTX/kg, s.c. one day before and during three days after STZ administration or citrate buffer) or with saline were killed and EDL muscle was incubated in appropriate medium. PTX treatment induced significant decreases in total rates of protein breakdown (17% in diabetic group), in Ca^{2+}-dependent (47%) and ATP-proteasome-dependent (23%) proteolytic pathways. Western blotting analysis showed that increased m-calpain content in muscles from diabetic rats (115% as compared to normal group) was reduced by 70% with PTX treatment, without effect on the calpastatin content. In addition, the higher protein levels of 20S proteasome C2 subunit in the diabetic group were reduced by 24% after PTX treatment. RT-PCR analysis showed that atrogin-1 transcripts levels in EDL from diabetic rats were higher than controls and were reduced by 23% with PTX. PTX treatment induced an increase in the cAMP content, assessed by an enzyme immunoassay system, in EDL muscles from diabetic rats. Con-

clusions: The present data suggest that PTX exerts an inhibitory effect on protein degradative systems in muscles from acutely diabetic rats, probably involving the participation of cAMP intracellular dependent cascades. Financial Support: CNPq, FAPESP

POS 16-44

Effect of angiotensin II on superoxide generation and protein expression of NAD(P)H oxidase components in isolated pancreatic islets. Hirata, AE[1]; Oliveira-Emilio, HR[2]; Morgan D[2]; Rocha, MS[2]; Carvalho, CRO[2]; Curi, R[2]; Carpinelli, AR[2]. 1Departmento de Fisiologia, Universidade Federal de São Paulo; 2Departmento de Fisiologia e Biofísica, Universidade de São Paulo, Brasil.

Angiotensin II (Ang II) is the biological active component of renin-angiotensin system (RAS), and controls blood pressure, electrolyte balance, cell growth and vascular remodeling. Previous studies have shown that glucose stimulates the production of reactive oxygen species (ROS) in isolated pancreatic rat islets and this response is modulated, in a great part, by the NAD(P)H oxidase activity. Ang II is known to activate NAD(P)H oxidase in several tissues and this hormone has an important function in the control of insulin secretion. Considering the concomitant occurrence of hypertension, insulin resistance and B cell secretion impairment in the development of type II diabetes, the aim of the present study was to evaluate the effect of Ang II on superoxide modulation and expression of NAD(P)H oxidase components ($p47^{PHOX}$ and $p67^{PHOX}$) in isolated pancreatic rat islets from normal rats. For these purposes, rat pancreatic islets were isolated using collagenase. The isolated islets were incubated for 30 minutes in the presence of 2.8mM glucose (control) and increasing concentrations of Ang II. Superoxide generation was evaluated by the hydroethidine method and the images analysed by confocal microscopy. Isolated islets were incubated for 60 minutes and the expression of $p47^{PHOX}$ and $p67^{PHOX}$ was analyzed by Western blotting analysis. Ang II (10^{-6}M) stimulated superoxide generation by islets incubated for 30 min in the presence of 2.8 mM glucose and DPI (an inhibitor of NAD(P)H oxidase) abolished this response. In addition, isolated islets incubated for 60 min in the presence of Ang II (10^{-6}M) showed higher expression of $p47^{PHOX}$ and $p67^{PHOX}$. We conclude that Ang II by increasing the activity of NAD(P)H oxidase stimulates pancreatic islet superoxide generation. The increase in the expression of NAD(P)H oxidase components by Ang II may lead to impairment of B cells function.

Grants from: FAPESP and CNPq

POS 16-45

Cardio-protective effect of exercise training on cardiac function in diabetic hypertensive rats. Tatiana Sousa Cunha[1], Kaleizu Teodoro Rosa[2], Sílvia Beatriz Paulino Cavasin Souza[2], Karin Flues[2], Geórgia Cândido[2], Bruno Rodrigues[2], Kátia De Angelis[3], Maria Cláudia Irigoyen[2], Fernanda Klein Marcondes[1]. [1]Physiological Sciences, Dental School of Piracicaba, UNICAMP, Piracicaba, SP, Brazil. [2]Hypertension Unit, Heart Institute, School of Medicine FMUSP, SP, Brazil. [3]Human Movement Laboratory, São Judas Tadeu University, SP, Brazil.

Concurrence of diabetes and hypertension results in functional cardiac impairment. On the other hand, exercise training has been indicated as a non-pharmacological treatment for cardiac and metabolic diseases. The aim of this work was to evaluate the role of exercise training on cardiac function in diabetic hypertensive rats. Spontaneous hypertensive rats (SHR; 3 months old) were made diabetic with an injection of streptozotocin (STZ, 50 mg/Kg), and randomized into 2 groups: sedentary diabetic SHR (S, n=6) and trained diabetic SHR (T, n=6). Exercise training was performed on a treadmill (1h/day, 5days/wk, 10wk) and two days after the last training session, rats were submitted to echocardiography. Data were compared by unpaired Student's *t*-test ($p<0.05$). As expected, all animals presented high blood glucose. Exercise training reduced glicemia (T=390±30 *vs*. S=455±16 mg/dL) and left ventricle mass/body weight ratio (T=5.2±0.1 *vs*. S=5.8±0.1). These effects induced by exercise training were accompanied by an improvment in left ventricle fraction ejection (T=0.82±0.02 *vs*. S=0.70±0.02) and left ventricle fractional shortening (T=0.46±0.03 *vs*. S=0.35±0.02). These results show that exercise training improves both systolic and diastolic function in concurrent diabetes and hypertension. Financial Support: FAEPEX - UNICAMP, CNPq.

POS 16-46

Model of metabolic syndrome in Wistar rats during lactation. Annie Moreira[1]; Michelle Teixeira[1]; Fernanda Osso[1]; Aníbal Moura[1]. [1] Department of Physiological Sciences / University of State of Rio de Janeiro- Rio de Janeiro/ RJ

Introduction: The Metabolic Syndrome is a complex syndrome represented by cardiovascular factors of risk usually related to the central deposition of fat and the resistance the insulin. ¼ of the whole world adults has metabolic syndrome**. Objective**: To study the metabolic consequences of the over nutrition during the lactation in male pups to the 10 and 21 days. **Methods:** Litter of Wistar rats had been displayed the over nutrition for reduction of litter of 10 animals for 4 in the room day postnatal (over nutrition group - OG) or kept in the complete litter (control group CG). The animals had been sacrificed to the 10 and 21 days. It was evaluated in each group: weight, length and estimate of the milk ingestion, presence of left ventricular hypertrophy (LVH) for the relation left ventricle (LV)/tibia (t). The study also examined blood samples: glucose, total cholesterol and triglyceride. **Results:** The over nutrition ones to the 10 and 21d had presented bigger weights than its controls ($p<0.001$), probably for having greater energy ingestion ($p<0,05$) and without difference statistics in the lengths. The over nutrition group had developed LVH ($p<0.05$). The glucose, cholesterol and

triglyceride had been bigger in GO10 and GO21 ($p<0.05$). **Conclusions**: The results suggest that the over nutrition in the postnatal period is a model for study of the metabolic syndrome, beyond the appearance of precocious form of left ventricular hypertrophy. **Financial support**: CAPES, CNPq and FAPERJ

POS 16-47

Efeitos do extrato da casca de uva (GSE) na hiperglicemia em camundongos tratados ou com aloxânio, na resistência insulínica e sobre a expressão do Glut-4. Michelle Teixeira[1]; Annie Moreira[2]; Aníbal Moura[2]; Roberto Soares de Moura[1]. Lab. de Fisiologia da Nutrição e do Desenvolvimento, Dpto de Ciências Fisiológicas[2], Dpto de Farmacologia[1], Instituto de Biologia, Univ do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Trabalhos epidemiológicos demonstram um efeito benéfico da ingestão moderada de vinho quanto à incidência de diabetes mellitus. Nosso objetivo foi avaliar o possível efeito anti-diabetogênico do extrato da casca de uva (GSE) obtido das uvas *Vitis labrusca* em camundongos diabéticos induzidos por aloxânio. O GSE foi obtido segundo Soares de Moura et al., 2002. Os animais adultos foram divididos em: grupo controle - GC (acesso livre à água); grupo controle + GSE - GCGSE (200mg/kg/dia; vo); grupo aloxânio - GA (600mg/kg - 3 doses alternadas i.p.); grupo aloxânio + GSE - GAGSE (600mg/kg - 3 doses alternadas i.p. + GSE 200mg/kg/dia, iniciando uma semana antes do aloxânio até 14 dias após; vo). Avaliou-se a glicemia por glicofita no dia 0 (antes da aplicação do aloxânio), e no 5º, 10º e 14º após a última dose de aloxânio. Determinou-se a insulinemia no 14°dia por radioimunoensaio (RIA). Os resultados estão expressos em média± desvio padrão. A expressão de Glut-4 foi avaliada por Western Blotting. No 14º dia, a glicemia dos animais GAGSE foi menor em relação ao controle (GAGSE: 328,7±45; GA: 143,5±15; $p<0,001$). Neste tempo, o efeito hipoglicemiante do GSE também foi observado no GCGSE em relação ao GC (GCGSE: 100,8±3,3; GC: 70,3±4,4; $p<0,001$). Não houve diferença na insulinemia entre os pares de grupo. O índice de HOMA foi menor nos GCGSE e GAGSE em relação aos seus respectivos controles (GA: 18,1±1,9; GAGSE: 9,2±2,7; e GC: 6,4±1,0; GCGSE: 3,7±0,3; $p<0,01$). O tratamento com GSE aumentou a translocação do Glut-4 nos animais tratados com aloxânio e controles (5,5 e 56% respectivamente). Os resultados sugerem efeito hipoglicemiante e anti-diabetogênico do GSE nestes animais, possivelmente pela melhora da sensibilidade periférica à insulina.

POS 16-48

Effect of hyperglycemia and antioxidant on lymphocytes viability and proliferation. Roxana Rubinstein, Miriam Wald, Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos, CONICET, Argentina

Experimental literature suggests a relation between diabetes and immunosuppression. The aim of this work was to study the immune response in diabetic mice and the participation of hyperglycemia. We found a decrease in antibody production to T-dependent antigens in diabetic mice respect to controls. As hyperglycemia was demonstrated to be one of the major mechanisms involved in diabetic complications, the effects of high glucose concentrations (HG) on normal lymphocyte activity were evaluated. HG diminished cell viability and increased apoptosis -as measured by trypan blue exclusion and Hoescht staining or propidium iodide cytometry respectively- of lymphocytes. It also inhibited proliferative responses to T and B-selective mitogens as well. High concentrations of mannitol had no effect on these parameters, thus indicating that actions of HG are not due to osmotic stress. HG also induced an increase in oxidative stress -measured by reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation production- and in protein kinase C (PKC) activity, on T and B lymphocytes. Antioxidants such as C vitamin and N-acetilcysteine (NAC) completely reverted HG actions on cell viability and partially restored T and B proliferative response to mitogens.

These results indicate that hyperglycemia in diabetes would interact with lymphocytes decreasing their activity and viability. In these effects an increment of oxidative stress would be responsible for cellular death, while PKC activity would be involved in proliferative actions of HG.

POS 16-49

The Thyroid hormone and the TRb selective Agonist GC-24 modulate Proteasome related genes in a differential manner. Vanessa Fonseca Vilas Boas[1], Marina Malta Letro Kisyz[1], Thomas Scanlan[2], Anselmo Sigari Moriscot[1]. [1]Department of Cell and Developmental Biology Institute of Biomedical Science University of São Paulo, Brazil and [2]Department of Pharmaceutical Chemistry, University of California, San Francisco, California.

Triiodothyronine (T3) is known to play a key role in the function of several tissues/organs via the thyroid hormone receptor isoforms alpha (TRalpha) and beta (TRbeta). We have investigated the effects of GC-24, a novel synthetic TRbeta-selective compound, on the expression of genes involved in the ubiquitin-proteasome pathway, which are important regulators of muscle proteolysis. We examined the expression in skeletal muscle of ubiquitin ligases (atrogin-1, MuRF-1 and E3Alpha) and deubiquitinating enzymes (UBP45, UBP69 and USP28). 3 groups of Wistar male rats were treated with T3 (30ug/100g of body weight) and another 3 groups were treated with equimolar amount of GC-24 (16ug/ 100g of body weight) by daily intraperitoneal injections for different times (12 hours, 1 and 7 days). Total RNA was isolated from soleus and extensor digitorum longus (EDL) muscles by using the Trizol reagent. Further, Real-time PCR analysis was used to access gene expression levels. T3, but not GC-24, increased Atrogin-1 mRNA in soleus. On the other hand,

GC-24, but not T3 increased Atrogin-1 mRNA in EDL. T3and GC-24 both increased E3a mRNA in soleus, but in EDL only GC-24 increased E3a gene expression. GC-24, but not T3, increased MURF-1 gene expression in the soleus and in the EDL, T3 but not GC-24, increased MURF-1 expression. T3, but not GC-24, was able to decrease UBP 45 gene expression in the soleus. In the EDL GC-24 decreased UBP 45 gene expression. USP 28 gene expression was robustly elevated by GC-24 in both muscles analyzed. This preliminary data show that GC compounds are able to modulate genes that are non responsive to T3, suggesting that GC compounds could interfere in molecular interactions between liganded TRs bound to certain TREs, changing transactivation capacity

POS 16-50

Thyroid hormones regulate the balance between proliferation and apoptosis of murine tumor T lymphocytes via nitric oxide synthase (NOS) and atypical protein kinase C (PKC) ζ modulation. María L. Barreiro Arcos, Alicia J. Klecha, Ana M. Genaro, Graciela A. Cremaschi. CEFYBO-CONICET-Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Thyroid hormones (TH) exert a broad range of effects on development, growth and metabolism. They are able to influence proliferation and differentiation in different cell types, but their direct actions on lymphoid cells have not been elucidated. Previously we demonstrated that TH were able to stimulate proliferation and to induce division of quiescent tumor BW5147 (BW) T lymphocytes. These actions were observed up to 72 hours of culture and involved PKCζ and iNOS activities. The aim of this work was to further characterize intracellular signals triggered by TH on BW lymphocyte proliferation and to analyze the actions induced by prolonged treatment with these hormones. The activation of iNOS mediated by TH was down-stream PKCζ. The phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) blocker wortmannin was able to abrogate TH-mediated increase in proliferation and in NOS activity. Moreover, sulphasalazine, an inhibitor of NF-kB activation was also shown to impair these actions. EMSA assays showed that TH also induced NF-kB activation, effect that was blocked by the specific pseudosubstrate of PKC ζ. After 5 days of culture HT inhibited BW growth inducing apoptotic mechanisms as demonstrated by Hoescht staining and DNA ladder technique. These effects were accompanied by an increased in NOS activity, greater than that observed during proliferative actions of HT. Also a decreased in PKC ζ, while an increase in iNOS gen and protein levels were observed. These results show that proliferative HT actions are mediated by PKCζ activation of iNOS, with PI3K and NF-kB acting up-stream and down-stream PKC ζ respectively. With prolonged HT exposition an exacerbate increase in iNOS activity would lead to PKC ζ decrease thus leading to apoptotic mechanisms. In conclusion HT exert opposite effects on BW lymphocyte growth, depending on the time of action and modulating iNOS and PKC ζ levels.

POS 16-51

Efecto de la privación proteica sobre la transcripción de enzimas hepáticas de ratón. Ocampo E. H., Ronchi V. P., Caballero V.J., Chisari A. N., Conde R. D.1nstituto de Investigaciones Biológicas (FCEyN-UNMdP). Funes 3250, 4tonivel, CC1245 (7600) Mar del Plata. Argentina. e-mail: emoatoferroso@hotmail.com

La malnutrición proteica altera el metabolismo hepático produciendo desbalance energético y estrés oxidativo. El suministro de una dieta sin proteínas (SP) ni aminoácidos modifica el nivel de las glutatión-S transferasas (mGSTM1, mGSTP1, mGSTA3), anhidrasa carbónica III (ACIII) y gliceraldehido 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) en hígado de ratón hembra. La adición de metionina a la dieta sin proteinas (SP+Met) revierte alguno de estos cambios. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la expresión de ARNm de las mencionadas enzimas, en hígado de ratón hembra alimentado con dietas SP y SP+Met. Luego de cinco días de dieta, se aisló el ARN mediante el método de guanidinio-fenol-cloroformo. Las determinaciones del contenido relativo se realizaron por *Northern-blot* y qRT-PCR utilizando sondas y primers específicos. Con la dieta SP la expresión del ARNm de mGSTP1 y mGSTM1 aumentaron un 90% y 50% respectivamente, mientras que el correspondiente a mGSTA3 disminuyó levemente. La dieta SP+Met disminuyó aproximadamente un 50% el contenido de ARNm de las tres subunidades de mGSTs. Además, los resultados indicaron que los niveles de ARNm de ACIII y GAPDH disminuyen con la dieta SP y SP+Met. En conjunto, nuestros resultados demuestran una regulación diferencial de la expresión de ARNm de mGSTs, ACIII y GAPDH durante la privación dietaria de proteínas. Además revelan el efecto regulador de la metionina dietaria sobre la expresión de estas enzimas hepáticas. Este trabajo fue financiado por *CONICET, CIC, UNLP y UNMDP*.

POS 17
Cronobiología
Cronobiology

POS 17-01

Reentrainment acceleration of circadian rhythms in hamsters. Patricia V. Agostino, Santiago A. Plano and Diego A. Golombek. Laboratorio de Cronobiología, Departamento de Ciencia y Tecnología. Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, ARGENTINA. E-mail: dgolombek@unq.edu.ar.

Light pulses synchronize body rhythms by inducing phase delays during the early night and phase advances during the late night. Several signals, including glutamate, Ca^{2+}, CaMKII, and NO are known to be involved in circadian phase shifting, both for delays and advances. The pathway inducing either a phase advance or a phase delay diverges downstream of NO. During the late night, light stimulation activates the GC/cGMP/cGK pathway. Cyclic nucleotide phosphodiesterases (PDE) have been reported as regulators of intracellular cAMP and cGMP concentrations. One of the PDE families, cGMP-binding PDE (PDE5), is highly specific for cGMP, and is involved in modulation of the intracellular cGMP concentration. We have determined by reverse transcriptase PCR the presence of PDE5 in the hamster SCN. In hamsters that received the administration of specific PDE5 inhibitors, reentrainment to a 6 h phase shift of the LD cycle took significantly shorter than controls, and the application of 15 min light pulses in DD produced shorter transients during phase advance of the rhythm at CT18. No difference was observed in phase delays at CT14. Here we show that direct inhibition of PDE-5 in the SCN affects photic entrainment, indicating a potential benefit for circadian disorders which require an increase in light signaling to the clock. We suggest that the main effect of PDE5 inhibition on the circadian system is an acceleration of the synchronization in response to a phase advance of the LD cycle. This finding could serve as a basis for pharmacological treatment for optimizing circadian adaptation to environmental changes, including transmeridian flight schedules (jet-lag).

POS 17-02

Ritmo circadiano do consumo de oxigênio e da atividade da glicogênio fosforilase no gânglio cerebral do caracol *Megalobulimus abbreviatus*. Victório Bambini Jr, Luciano S. de Fraga, Bernardo C. Detanico, Aline S. Gonçalves, Ana K. K. de Aguiar, Marina dos Reis, Matilde Achaval, Denise M. Zancan. Lab. Neurobiologia, Deptos. de Fisiologia e C. Morfológicas, Inst. Ciências Básicas da Saúde, Univ. Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

O caracol terrestre *Megalobulimus* vem sendo utilizado como modelo experimental para neuroanatomia, neuroquímica e comportamento. Diante da necessidade de conhecer as características rítmicas circadianas de alguns parâmetros fisiológicos em condições basais, os objetivos deste trabalho foram avaliar o consumo de O_2 desta espécie e a atividade celular - glicogênio fosforilase ativa (GFa) - dos gânglios cerebrais (GC) em diferentes horas. Coletados em Barra do Ribeiro (RS), os caracóis foram mantidos em terrários com temperatura (20-25°C), umidade (>75%) e fotoperíodo (12h L:12h D) controlados. Para registrar o consumo de oxigênio (V_{O2}), os animais foram colocados em respirômetros diferenciais, e V_{O2} registrado periodicamente por web-cam nos horários: 1h, 4h, 7h, 10h, 13h, 16h, 19h e 22h. Os GC foram dissecados às 7h, 13h, 19h e 1h, congelados e seccionados (criostato, 25μm). A intensidade da reação enzimática (histoquímica da atividade da GFa; Woolf et al.,1985) foi analisada por densitometria óptica (Image Pro-Plus 4.1). A ANOVA, seguida de Tukey, revelou que existe um consumo médio de O_2 (V_{O2} = μl $O_2.g^{-1}.h^{-1}$) significativamente maior ($P<0,001$; *) entre os grupos dos horários da noite [19h (31,00±5,74)*, 22h (30,19±4,75)*, 1h (25,57±7,18), 4h (24,41±7,58)] comparados com os das horas diurnas [7h (16,48±7,97), 10h (16,31±6,68), 13h (9,95±3,67), 16h (12,47±3,95)]. O neuropilo medial cerebral demonstrou atividade máxima da GFa às 19h e esse aumento foi significativamente maior ao valor das 7h e das 13h. A glicemia estava aumentada durante a noite. Um maior consumo de O_2 durante a noite indica uma maior atividade comportamental noturna, indicado pelo aumento da atividade glicolítica neuronal e glial dos GC de *M. abbreviatus*. PIBIC-UFRGS, CNPq, CAPES.

POS 17-03

Variación diaria del efecto de la hormona dispersora del pigmento, sobre la excitabilidad de las células fotorreceptoras del acocil. Carolina Barriga-Montoya, Beatriz Fuentes-Pardo. Laboratorio de Cronobiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

En este trabajo se explora la acción de la hormona dispersora del pigmento (HDP), un péptido clave en la maquinaria de los ritmos circadianos de los crustáceos y de los insectos, sobre la respuesta eléctrica de los fotorreceptores visuales a la luz, el potencial de receptor (PR), a lo largo de un ciclo del ritmo circadiano del electrorretinograma. Nuestros resultados muestran que en todas las fases del ritmo circadiano, la HDP siempre

provoca una disminución en la amplitud del PR, teniendo su máximo efecto, del 75% de su valor original, hacia las 6 horas del tiempo circadiano (TC). En lo que respecta a la duración, la hormona induce cambios cualitativos que dependen de la hora circadiana en la que se aplique. Durante la primera parte del ciclo circadiano hay una disminución hasta el 75% de su valor original, y en la segunda parte un incremento hasta el 130% de su valor original. La diferencia cuantitativa que produce esta hormona en la amplitud del PR, dependiendo del tiempo circadiano, sugiere cambios periódicos en la afinidad y/o número de receptores a la HDP. Los efectos cualitativamente diferentes que produce la HDP en la duración del PR, son más difíciles de explicar ya que durante la noche subjetiva se produce una disminución y durante el día subjetivo un incremento. Apoyado por DGAPA IN 206203

POS 17-04

Clock stars: suprachiasmatic astrocytes mediating immune-circadian communication MJ Leone, L Marpegan, DA Golombek, Lab. Cronobiología, Depto de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

The suprachiasmatic nuclei (SCN), the site of a mammalian circadian clock, are enriched in astrocytes. These cells might modulate the inputs into the SCN (e.g., regulating glutamate metabolism) and act as coupling agents for neuronal activity. Since astrocytes express (and respond to) cytokines, we studied their role as mediators of immune inputs into the central pacemaker. Our previous results suggest that SCN glia can mediate immune stimulation to the mouse circadian system via NF-κB signalling. In this work we tested whether cytokines or conditioned media from SCN glial cells after stimulation with diverse immune factors might be able to modulate the circadian molecular machinery (e.g., expression of the clock gene *period*) in fibroblasts. NIH 3T3 cells were transfected with a *period*-luciferase construct; per levels were significantly increased after treatment with PMA (76%, $p<0.01$, ANOVA Dunnet`s test), foetal bovine serum (65%, $p<0.05$), TNF□ 2 or 200 ng/ml (56 and 54% respectively, $p<0.05$) or IL-1□5 or 50 ng/ml (59 and 68%, respectively, $p<0.05$). In addition, conditioned media from SCN glial cultures stimulated with LPS or TNFα also stimulated per-luc expression (by 60 and 59%, respectively, $p<0.05$, ANOVA, Dunnet's test), although IL-1□did not affect per levels. These results suggest that glial cells can release some signal (in response to immune factors) and stimulate clock gene expression. Moreover, SCN glial metabolic activity (assessed by glutamine synthetase activity) is rhythmic under photoperiodic or constant conditions being higher during the day or subjetive day, and dependent on retinal input to the clock (since enucleation affected this cycle). Taken together, our results indicate that SCN glia offer a rhythmic environment upon which humoral factors might be able to affect the circadian clock.

POS 17-05

La melatonina modula la amplitud del potencial de receptor de células fotorreceptoras del acocil *Procambarus clarkii* a traves de un posible receptor membranal. Mendoza-Vargas L, Solís-Chagoyán H, Fuentes-Pardo B. Laboratorio de Cronobiología, Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

En invertebrados, al igual que en vertebrados, se ha detectado la presencia de melatonina. En los tallos oculares del acocil *Procambarus clarkii* se ha encontrado una variación diaria en la concentración de esta hormona, con un pico máximo en la fase de oscuridad. Las evidencias más recientes sobre el posible mecanismo a través del cual actúa esta hormona en diversas respuestas fisiológicas de vertebrados sugieren que se da a través de su interacción con receptores membranales. En este trabajo se determinó el efecto de la melatonina sobre la respuesta eléctrica a la luz de las células fotorreceptoras de los tallos oculares (potencial de receptor, PR) del acocil en un ciclo de 24 horas. Se encontró que ese efecto al parecer esta mediado por la interacción de la hormona con receptores de membrana. La melatonina ($1x10^{-7}$) aumenta el PR a lo largo de un ciclo de 24 horas, excepto a las 20:30 que se observó una reducción. Cuando se probó DH97 ($1x10^{-9}$) (antagonista al receptor MT2) junto con melatonina en dos horas en las que se observaron efectos contrarios se encontró el DH97 es capaz de bloquear ambos efectos, lo que fuertemente apoya el hecho de que la melatonina modula la amplitud del PR a través de su interacción con receptores de membrana.

Apoyado por DGAPA IN206203

POS 17-06

Efavirenz modifies circadian parameters of activity in Golden Hamster. Scacchi Bernasconi Pablo Antonio, Schmukler Juan, Comastri Lucía, Bruno Verónica Andrea, Cardinali Daniel Pedro(*), Cutrera Rodolfo Ángel. Lab.de Neurobiología y Ritmos, (*)Lab. de Neurociencias. Dto. de Fisiología. Facultad de Medicina. UBA, Argentina.

Efavirenz (EFZ) is a non nucleoside reverse transcriptase inhibitor used in the treatment of HIV-1 infection. However, some of EFZ´s undesired effects include sleep disorders. In mammals, sleep-wake cycles are controlled by the suprachiasmatic nuclei (SCN), which are sensitive to both photic and non photic stimuli. The aim of this study was to evaluate the effects of EFZ on wheel-running activity rhythms in the Golden Hamster.

Three month old male hamsters were kept in free-running conditions (constant darkness) for a period of three weeks; and then received a single dose of either EFZ (50 mg/kg BW in 0.1 ml of a 0.5% methylcellulose solution; EFZ group) or its vehicle (CTRL group), administered by *gavage*, at different circadian times (CT): 3, 7, 12, 17 or 22 (activity onset at CT12). Wheel running activity was evaluated using a telemetry system,

measured in 5 min-bins, during seven days previous to treatment and seven days following treatment. Activity onset analysis showed a difference between EFZ group animals treated at CT17 and those treated at CT12, with the former exhibiting a manifest delay (p=0.025 ANOVA TUKEY). As for the rhythm´s period, differences were also observed at CT17, when it was markedly lower than at CT12 and CT 7 (p=0,002 ANOVA TUKEY). Acrophase and amplitude showed significant global differences (p=0.011 and p =0.044 respectively). Regarding the latter, EFZ group animals treated at CT17 presented a higher rhythm amplitude than those treated at CT12 (p=0.031). Given the differences in certain key parameters, controlled by SCN, our results suggest that EFZ treatment may alter the clock activity. These observations are a step forward towards improving sleep quality of HIV infected patients.

POS 17-07

Efeitos da ingestão crônica de *Trichilia catigua* (catuaba) no comportamento de ratos *wistar*.para os Testes Labirinto em Cruz Elevado e Campo Aberto com o Predador Jader Teruel, Rafaela Maria Moresco, Jonatha Edson de P. Lima, Maristela Jorge Padoin, Lab. Neurociências e Comportamento, CCBS, Unioeste e FAG, Brasil.

O Brasil possui cerca de 20% das espécies da flora do planeta, que tem sido alvo de muitas pesquisas na farmacologia. A catuaba *Trichilia catigua* (Meliaceae), de origem nativa, é conhecida por seus efeitos afrodisíaco, estimulante do sistema nervoso, tônico, e cura de insônia, fadiga e impotência. O presente trabalho testou o comportamento de grupos de ratos *wistar* submetidos à ingestão crônica de *Trichilia catigua* nos Testes Labirinto em Cruz Elevado e Campo Aberto com o Predador (períodos: antes, com e depois do gato): G1 (ingestão de Catuaba, 60 gr/l + sacarose 38 gr/l) e G2 (ingestão de Sacarose, 38 gr/l). Machos e fêmeas adultos, após 1 mês ingerindo solução, foram separados em casais. Constatada a prenhêz, retirou-se os machos. Após o parto, seleção da prole (8 filhotes/fêmea). Teste Labirinto (70 dias de idade); comportamentos avaliados: olhar para fora do braço fechado ou aberto, estar no braço fechado ou aberto. Após 2 dias, Teste Campo Aberto; comportamentos avaliados: estar e olhar para a área do gato, *grooming*, parado, movimento, cruzar linha, *rearing*. Filmagens avaliadas em software para os dados isolados de latência, freqüência e duração dos comportamentos. Nível de significância: $p<0,05$. No Labirinto em machos: maior freqüência de olhar fora do braço fechado em G1 (6,00±0,59) do que G2 (3,63±0,52); duração deste comportamento em G1 (4,89±0,77) e G2 (1,81±0,42). No Campo Aberto para as fêmeas depois do gato: freqüência estar na área do gato em G1(0,34±0,17) menor que G2 (1,72±0,86); duração estar na área do gato em G1 (3,51±1,92) foi menor que G2(19,36±10,31); G1 (266,37±9,45) ficaram mais tempo paradas do que G2 (219,09±27,53). Em machos depois do gato, a freqüência de grooming em G1 (3,58±0,74) foi maior que G2(1,09±0,31); G1 (15,72±4,69) menor tempo na área do gato que G2 (59,18±28,39). A *Trichilia catigua* diminuiu a ansiedade em machos.

POS 17-08

Sincronización fótica y con melatonina del ritmo circadiano de amplitud del electrorretinograma en acociles. Héctor Solís-Chagoyán, Leonor Mendoza-Vargas, Beatriz Fuentes-Pardo. Lab. Cronobiología, Depto. Fisiología, Fac Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Los ritmos circadianos son oscilaciones periódicas de funciones controladas por un sistema endógeno. Estos ritmos son sincronizables por señales externas como el fotoperíodo. En vertebrados, la melatonina es considerada un sincronizador no luminoso, cuyo mayor nivel circulante se presenta durante la noche. Un ritmo circadiano bien caracterizado en el acocil es el de la amplitud del electrorretinograma (ERG). Para conocer si la melatonina sincroniza este ritmo, se registró la amplitud del ERG durante 40 días consecutivos en condiciones de oscuridad constante. Durante los primeros 14 días, el registro se hizo en condiciones de oscilación libre. Del día 15 al día 26, se aplicó un pulso de luz (250 lx, 15 minutos) o una dosis de melatonina (0.1 ml, 1 microM) a la misma hora del día. A partir del día 27 y hasta el final del registro, se regreso a las condiciones iniciales de oscilación libre. Durante la primera etapa, el período del ritmo fue de 23.3 h. Durante la etapa de aplicación del pulso de luz o de melatonina, el período se ajustó a 24 h. Durante la etapa de regreso a la oscilación libre el período volvió a ser de 23.3 h. Por lo que se refiere a la fase, se observó que en la segunda etapa en que el período se ajustó a 24 h, el momento de aplicación del pulso de melatonina coincidió con el inicio de la fase de actividad del ritmo de amplitud del ERG, mientras que el momento de aplicación de la luz, correspondió con el inicio de la fase de reposo del ritmo. Estos resultados sugieren que en esta especie nocturna la melatonina es una señal asociada con la escotofase del ciclo diario de luz-oscuridad. Proyecto apoyado por DGAPA IN-206203.

POS 17-09

Efecto de la administración de melatonina en dos extremos del ciclo circadiano sobre el comportamiento agonista del acocil *Procambarus clarkii.* Elizabeth Guarneros-Bañielos, Laura Hernández, Jannet Alpizar, Biatriz Fuentes-Pardo*. Departamento de Fisiología, Escuela Nacional de Ciencias Biologicas, IPN y *Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México.

La melatonina se libera en la glándula sinusal (tallo ocular) en acociles, la concentración endógena se incrementa durante la noche (tracto óptico pineal) y es la encargada de modular la información fotoperiódica,

funciones nerviosas, endocrinas y conductuales. Un comportamiento interesante de estudiar es el comportamiento agonista. De manera inicial se registro el comportamiento agonista (tres lotes a las 10:00 h y tres lotes a las 23:00 h) en sesiones de 30 minutos, durante cinco días consecutivos al sexto día se administró melatonina y solución salina (SSI) 10 minutos antes del registro, en un primer lote se administró SSI tanto al dominante como al subordinado, al segundo lote melatonina al individuo dominante y SSI al subordinado y en el tercer lote se administró SSI al dominante y melatonina al subordinado, en seguida se registraron los contactos agonistas. Al administrar melatonina durante el día se observo un incremento en la actividad agonista tanto en los grupos en los que se administró al dominante (53.15%) y al subordinado (39.8%), sin embargo la administración de melatonina durante la noche no presenta cambios significativos en la actividad agonista, lo cual podría indicar que las altas concentraciones de melatonina liberadas por la noche (de manera normal) están provocando su efecto máximo. Dado que estos animales son diurnos, el efecto de la melatonina administrada en el día coincide con la actividad presentada durante la noche, es decir si se compara el número de contactos agonistas de estos grupos no se encuentran diferencias significativas. Lo cual, podría indicarnos de manera indirecta que los receptores de melatonina también se encuentran expresados durante el día.

POS 17-10

Is there anybody out there? NO communication in the circadian clock. Santiago A. Plano, Patricia V. Agostino and Diego A. Golombek. Lab. Cronobiología, Depto. de Ciencia y Tecnología, Univ. Nac. de Quilmes, Buenos Aires, Argentina.

The master circadian clock in mammals is located in the hypothalamic suprachiamatic nuclei (SCN), which is synchronized by several environmental stimulus, mainly the light-dark cycle. Light reaches the SCN through a retinohypothalamic tract; light pulses in the early subjective night induce phase delays in clock-controlled circadian rhythms, while light pulses during the late subjective night induce phase advances. In both cases, light induces the expression of immediate early genes (such as *cfos*) or clock genes (such as *per*). Since light (through glutamatergic neurotransmission) primarily stimulates the ventral subdivision of the SCN, coupling agents must convey the photic signals to the dorsal area of the nuclei. We hypothesized that the gaseous transmitter nitric oxide (NO) is involved in intercellular (i.e., between ventral and dorsal areas) communication within the SCN. Our results indicate that administration of the NO scavenger 2-phenyl-4,4,5,5-tetramethylimidazoline-1-oxyl-3-oxide (PTIO, 1-100 μM) block light-induced phase advances in a dose-dependent manner at CT 18 (late subjective night). We also observed a complete inhibition of light-induced cFOS-ir in animals treated with PTIO at this time. At CT 14 (early night), PTIO administration induced no significant changes in behavior, suggesting that SCN communication at CT 14 might be NO-independent. Together, these results suggest that NO may act as an intercellular messenger in the SCN, mediating light-induced phase advances.

POS 17-11

Variaciones circadianas en las excreciones renales de agua, electrólitos y urea en ratones. Delanie Velazquez [1], Abisai Santana [1], Ernesto Pereira [2], Lab. de Fisiologia, Fac Adventista de Fisioterapia [1], Universidade Federal da Bahia [2], Brasil.

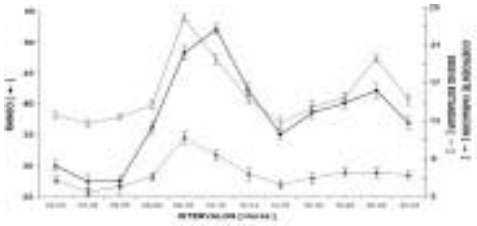
Variaciones circadianas en las excreciones renales de agua, Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^-, fosfato y urea fueran estudiadas en ratones Wistar, machos con un peso medio de 250 g. Los animales fueran colocados en jaulas metabólicas individuales con ingestión de agua ad libitum y recorrida continua de orina durante 12 h en la noche (de 6 p.m. a 6 a.m.). En las muestras de orina fueran medidos el volumen y las concentraciones de Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^-, fosfato y urea, calculándose las respectivas excreciones. Después de 3 dias los animales regresaran a las jaulas metabólicas durante 12 h en el dia (de 6 a.m. a 6 p.m.) siguiendo un protocolo similar al del periodo nocturno. Los resultados fueran expresados en media ± error estándar y el análisis estadístico fue realizado por el test de Shapiro-Wilk para determinar la normalidad de la distribución de la muestra. Para los datos con distribución normal (excreciones de agua, Na^+, Cl^-, fosfato y urea) fue utilizado el test t de Student para muestras dependientes. Los datos que no tuvieran distribución normal (excreciones de K^+ y de Ca^{2+}) fueran analizados por el test de Wilcox. Los resultados demostraran variaciones significativas en las excreciones de agua (4,18 ± 0,56 mL/100g/12h noche vs 1,90 ± 0,25 mL/100g/12h dia; $p < 0,01$), Na^+ (157,39 ± 16,65 μEq/100g/12h noche vs 82,84 ± 9,16 μEq/100g/12h dia; $p < 0,001$), K^+ (53,26 ± 4,49 μEq/100g/12h noche vs 31,53 ± 5,33 μEq/100g/12h dia; $p < 0,01$), Cl^- (218,34 ± 23,11 μEq/100g/12h noche vs 101,68 ± 11,73 μEq/100g/12h dia; $p < 0,001$), fosfato (2,16 ± 0,26 mg/100g/12h noche vs 1,08 ± 0,69 mg/100g/12h dia; $p < 0,001$) y urea (74,74 ± 7,52 mg/100g/12h noche vs 43,05 3,62 mg/100g/12h dia; $p < 0,001$), mientras que la excreción de Ca^{2+} no presentó variación (140,83 ± 21,80 μg/100g/12h noche vs 164,66 ± 25,74 dia μg/100g/12h; $p > 0,05$).

POS 17-12

Ritmo circadiano de la rigidez arterial: estudio del tránsito de la onda del pulso. Sebastián Lluberas, Daniel Bia, Yanina Zócalo, Santiago González, Mabel Zabalza, Ricardo Armentano. Depto de Fisiología, Fac. de Medicina, Uruguay. Univ. Favaloro, Argentina.

Introducción: El patrón circadiano en la incidencia de eventos cardivasculares se asocia con diversos factores, entre los que podrían encontrase cambios en la rigidez arterial (RA) y/o en su variabilidad. Analizar la influencia de estos factores requiere conocer el ritmo circadiano de variación de la RA en sujetos normales.

Objetivo: Caracterizar el ritmo circadiano de la RA y su variabilidad en sujetos sanos, analizando el tiempo de tránsito de la onda del pulso(TTP). **Método:** En 13 sujetos sanos (34±13 años) se realizó monitoreo ambulatorio (24 hrs.) de presión (P), ECG, y TTP corazón-brazo (índice de RA). En 12 intervalos (2 hrs. c/u) se calculó para la presión sistólica, diastólica, media y diferencial, frecuencia (FC) y TTP, el promedio y dispersión(desvío estándar, coeficiente de variación y rango). Estadística: ANOVA y Test T; umbral: $p<0.05$. **Resultados:** Los niveles y variaciones de P y FC fueron los esperados para sujetos normales. Si bien el menor TTP se encontró en horas de la mañana (mayor RA), sólo los parámetros de dispersión mostraron variaciones circadianas significativas (Gráfico; VM±DE). Cada 12 hrs. se evidenció un máximo de variabilidad. **Conclusiones:** Se caracterizó el patrón circadiano de RA y su variabilidad en sujetos sanos. La variabilidad de RA evaluada durante 24 hrs. mediante análisis del TTP, mostró un ritmo circadiano con un máximo en hrs. de la mañana.



POS 17-13

Daily variation of melatonin content in the optic lobe of the crab *Chasmagnathus granulatus*.

Fábio E. Maciel, Márcio A. Geihs, Marcelo A. Vargas, Bruno P. Cruz, Bianca P. Ramos, Olli Vakkuri, Victor B. Meyer-Rochow, Silvana Allodi, Luiz Eduardo M. Nery, Depto Ciências Fisiológicas, FURG, Depto de Histologia e Embriologia, UFRJ, Brasil.

In vertebrates melatonin is produced rhythmically in the pinealocytes of the pineal gland. With regard to crustaceans only a handful of studies exist that has attempted to identify the presence and possible daily variation of this substance. We set out to investigate whether in the crab *Chasmagnathus granulatus* melatonin was produced in the optic lobes of these animals and underwent rhythmic fluctuations related to the daily light/dark cycle. Our experimental animals were divided into three groups exposed to different photoperiods (10 days): normal photoperiod (12L:12D), constant dark (DD), and constant light (LL). The optic lobes were collected every 4 hours over a 24-h period for melatonin quantification by radioimmunoassay (RIA). The optic lobes of *C. granulatus* individuals, kept under a 12L:12D photoperiod, showed a significant difference ($p<0.05$) in melatonin along the 24-h period. The two peaks were separated by 12 hours, the daytime peak reaching 14.6 ± 1.8 pg of melatonin.(optic lobes)$^{-1}$ and the nighttime peak reaching 15.0 ± 1.6 pg of melatonin.(optic lobes)$^{-1}$. The melatonin profile of crabs maintained under the DD photoperiod, gave a similar and statistically significant result to that present in the 12L:12D animals ($p<0.05$), but the second peak was more pronounced (15.2 ± 1.4 and 19.9 ± 3.2 pg of melatonin.(optic lobes)$^{-1}$, respectively). In the LL photoperiod, no significant daily variations were observed ($p>0.05$), although the increase at 15 h persisted (16.9 ± 2.0 pg of melatonin.(optic lobes)$^{-1}$). These results demonstrate the presence of an endogenous daily biphasic fall and rise of melatonin in the eyestalk of *C. granulatus* in DD and 12L:12D photoperiods and suggest that continuous exposure to light inhibits the production of melatonin synthesis.

POS 17-14

Worming the circadian system out of *C. elegans.**

Romanowski, A.; Migliori, M.L.; Golombek, D.A.; Simonetta, S.H., Lab. de Cronobiología, Depto de Ciencia y Tecnología, Univ. Nacional de Quilmes, Argentina.

Circadian rhythms are ubiquitous in nature and are found from bacteria to humans, exhibiting circa-24 h cycles in most physiological parameters. Recently two circadian behaviors were described in the nematode *C. elegans*: adult locomotor activity and osmotic stress resistance in stage I larvae. Here we report the circadian changes in the stress response of adult nematodes to oxidative, osmotic and temperature shocks. We found that the stress resistance to oxidative stress peaked at zeitgeber time (ZT) 12 (0900 h) and decreased at ZT 0 (2100 h)(ANOVA, $p<0,001$). Osmotic stress resistance was minimal at ZT 0 and peaked at ZT 12 (ANOVA, $p<0,004$), as had been shown in L1 larvae. Since there is no gene known to control circadian behavior in *C. elegans*, we are studying stress-associated genes and homologues of clock genes described in other species. In addition, we are assessing circadian changes in other metabolic variables, such as food consumption, defecation and oxygen consumption. Food consumption was clearly rhythmic, peaking at ZT 21 (1800 h) (ANOVA, $p<0,02$), while no significant circadian parameters were found for the other variables. We have also developed an automated tracking system to study the locomotor activity of different strains of *C. elegans*. The average circadian period was of 24.2±0.44 h (56% animals exhibited significant rhythms) in LD, and 23.1±0.40 h (37.5% significantly rhythmic animals) under DD, (analyzed by LS periodograms). Activity rhythms were also affected by temperature cycles. In summary, our results will allow us to take full advantage of this widely used animal model (including research in genetics, ageing and developmental biology) for studies in Chronobiology. * *To worm*: to obtain or extract by artful or insidious questioning or by pleading, asking, or persuading - usually used with out of <finally wormed the truth out of him> (Merriam-Webster dictionary).

POS 18
Cáncer. Farmacología. Toxicología. Otros
Cancer. Pharmacology. Toxicology, Others

POS 18-01

El ácido retinoico como herramienta para el tratamiento farmacológico de la enfermedad de Cushing. Victor Castillo [1], Damiana Giacomini [2,5], Marcelo Páez-Pereda [3], Johanna Stalla [3], Marta Labeur [3], Marily Theodoropoulou [3], Florian Holsboer [3], Ashley B. Grossman [4], Günter K. Stalla [3] and Eduardo Arzt [2,5. 1] Unidad de Endocrinología, FVET, UBA, Argentina; [2] Lab. de Fisiología y Biología Molecular, FCEN, UBA, Argentina; [3] Max-Planck-Institute of Psychiatry, Munich, Germany; [4] Dept of Endocrinology, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, Queen Mary University of London, London, UK; [5] IFYBINE-CONICET

Actualmente el tratamiento farmacológico para la enfermedad de Cushing se encuentra limitado El ácido retinoico (RA) posee un efecto inhibitorio sobre la patofisiología de la célula corticotrofa. La enfermedad de Cushing es una patología normal en perros y debido a su similitud histopatológica con la enfermedad en humanos, estudiamos el posible uso del RA en perros. Tratamos con RA (N=22) versus ketoconazol (N=20) por 180 días a perros con enfermedad de Cushing. Se midieron y compararon los signos clínicos, las hormonas plasmáticas ACTH y α-MSH, la relación urinaria cortisol/creatinina y MRIs hipofisarios entre ambos grupos. Observamos una reducción de ACTH, α-MSH y cortisol/creatinina en los perros tratados con RA ($p<0.001$). El tamaño del adenoma hipofisario se redujo en aquellos perros tratados con RA ($p<0.008$). No sólo el tiempo de sobrevida ($p<0.008$) sino también todos los signos clínicos evaluados presentaron una mejoría bajo el tratamiento. No se observaron eventos adversos o signos de hepatotoxicidad. En clones corticotrofos AtT-20 que no responden a BMP-4 (un ihnibidor de la proliferacion corticotrofa) está bloqueado el efecto inhibtorio del RA sobre la proliferación celular, demostrando así una interacción entre RA y BMP-4. En conclusión el tratamiento con RA controló la secresión de hormonal, disminuyó el crecimiento tumoral y revirtió los síntomas clínicos de la enfermedad de Cushng. Un posible mecanismo podría ser medinte la interacción con la vía de BMP-4.

POS 18-02

Utilidad del ácido dimercapto succínico pentavalente (^{99m}tc- dmsa v) en el diagnóstico de la enfermedad ósea metastásica. Nayelli Ortega-López[1], Alfredo Márquez[1], Ofir Picazo[2]. [1]Universidad Autónoma de México, Centro Médico Nacional "La Raza", [2]Escuela Superior de Medicina del I.P.N. México D.F. México.

Este estudio reporta la utilidad del gammagrama corporal con ^{99m}Tc-DMSA V (^{99m}Tc-ácido dimercaptosuccínico pentavalente) en el diagnóstico de lesiones óseas secundarias a metástasis. Se estudiaron 19 pacientes con gammagrama óseo ^{99m}Tc-HDP; 3 con diagnóstico de rastreo óseo normal, 5 con estudio equívoco y 11 positivos para metástasis óseas; 3 días después se realizó un segundo rastreo con el marcador tumoral ^{99m}Tc-DMSA V, (3 y 24 horas postadministración i.v.). De los estudios realizados con ^{99m}Tc-HDP y ^{99m}Tc-DMSA V se trazaron áreas de interés sobre las lesiones óseas *vs*. tejido contralateral aparentemente sano, para determinar índices de captación. El análisis estadístico se realizó con las pruebas siguientes: t de Student, chi cuadrada, ANOVA de Kruskal-Wallis, U de Mann Whitney y razón de momios. Se analizó un total de 273 lesiones en el gammagrama óseo y 184 lesiones en el rastreo con el marcador tumoral (t de Student n.s); con un índice de captación para el ^{99m}Tc-DMSA V en la región lesión ósea/tejido sano de 3.3 (+/- 0.521) y para la región de tejido sano/sano de 1.01 [(+/- 0.01) (U de Mann Whitney $p<0.01$)]. La sensibilidad de ésta técnica mostró una sensibilidad del 92% y una especificidad del 97%. Los resultados sugieren que el gammagrama con ^{99m}Tc-DMSA V puede ser una herramienta útil para el diagnóstico de lesiones óseas metastásicas cuando existe un gammagrama con ^{99m}Tc-HDP equívoco o anormal. Además, esta aproximación permite evidenciar otras lesiones en el cuerpo a nivel óseo y en tejidos blandos.

Agradecimientos: COFAA, SIP-IPN

POS 18-03

The role of leukotrienes in vasopressin secretion during polymicrobial sepsis. Letícia Antunes Athayde[1], Gabriela Ravanelli de Oliveira-Pelegrin[1], Maria José Alves da Rocha[2], [1]Biociências Aplicadas à Farmácia, Fac. Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, [2]Depto Morfologia, Estomatologia e Fisiología, Fac Odontologia, Univ São Paulo, Brasil.

Severe sepsis is a systemic infection accompanied by hypotension and an increase in AVP secretion in the early phase but an inappropriate decrease in the late phase. Leukotrienes (LTs) are proinflammatory mediators that cause neutrophil chemotaxis, increase in vascular permeability and hypotension. Our aim was to study the role of LTs in AVP secretion during experimental polymicrobial sepsis induced by cecal ligation and puncture surgery (CLP). Male wistar rats (250-300g)

received an i.c.v injection of MK 886 (0.5, 1.0 or 2.0 μg/Kg), a LTs biosynthesis inhibitor, or DMSO (vehicle) 1h before CLP (10 punctures-16G) or sham operation. After 0, 4, 6, 18 or 24h they were decapitated and blood collected for hematocrit, osmolality, serum sodium determination and plasma AVP level measurement by RIA. CLP increased hematocrit but had no effect on osmolality and serum sodium. We observed an increase in AVP levels at 4h (5.5±1.6pg/mL, $P<0.05$) that returned to basal values at 24h (0.9±0.3pg/mL, $P<0.05$). Pretreatment with MK-886 did not affect osmolality, serum sodium, or hematocrit, but at all doses it attenuated the AVP increase observed after CLP. The results suggest that LTs play a role in AVP secretion in the early phase of severe sepsis induced by CLP in rats.
Technical Support: Nadir Martins Fernandes and Marina Holanda.
Financial Support: FAPESP

POS 18-04

Efeito na viabilidade celular do ácido acetilsalicílico em células K562 e Lucena. Michele Carrett Dias[1,2], Caren Ricardo[2], Rosilene Clementin[3], Marcelo D'oca[3], Gilma Santos Trindade[1,2]; [1]PPGCF - Fisiologia Animal Comparada, [2]Departamento de Ciências Fisiológicas, [3]Departamento de Química. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Brasil.

Uma em cada cinco pessoas desenvolverá uma forma de câncer. Entretanto é sabido que o câncer pode ser controlado em 75% dos casos e, descoberto precocemente, pode ser curado. Além das ferramentas convencionais para o tratamento do câncer, uma tentativa promissora vem sendo demonstrada para o ácido acetilsalicílico (AAS). O AAS é usado clinicamente por suas propriedades antiinflamatória, antipirética e analgésica. Também foi demonstrado que o uso continuado do AAS pode diminuir o risco de leucemia aguda e a formação de pólipos, prevenindo o câncer de colo retal humano. O objetivo deste trabalho foi estudar o efeito antileucêmico do AAS nas linhagens eritroleucêmicas K562 e Lucena (resistente a múltiplas drogas - MDR). As células foram mantidas em meio RPMI-1640 suplementado, a 37 ºC. Foram utilizadas concentrações de 2,5; 5; 10 e 15 mM de AAS. A viabilidade celular foi avaliada através da técnica de exclusão por azul de trypan e aferida imediatamente, 24, 48 e 72h, após incubação. As concentrações testadas nas duas linhagens, causaram uma diminuição tempo dependente na viabilidade (toxicidade), exceto na concentração 2,5 mM. Porém esta concentração causou diminuição no número de células viáveis em 72h, quando comparada ao controle. A concentração de 5 mM causou uma diminuição no número de células viáveis, quando comparada ao controle, em 48 h para a célula K562 e, em 72 h para a célula Lucena. Já nas concentrações de 10 e 15 mM houve diminuição no número de células viáveis e na viabilidade, em 48 h, nas duas linhagens estudadas. Os resultados permitem sugerir que 2,5 mM de AAS inibiu a proliferação celular e que as demais concentrações causaram toxicidade. Os efeitos do AAS não foram diferentes para as duas linhagens, desconsiderando o fenótipo MDR

POS 18-05

Respostas bioquímicas e comportamentais da exposição ao pesticida organofosforado metil paration utilizando o peixe *Danio rerio* (Cyprinidae) como modelo animal. Luciane Cougo dos Santos, Daiane Acosta, Tarsila Barros Moraes, Josencler Luis Ribas Ferreira, Thiago Lorente Carvalho, Luis Fernando Fernandes Marins, José María Monserrat, Daniela Martí Barros, Laura Alicia Geracitano, Depto de Ciências Fisiológicas, PPG-Ciências Fisiológicas-Fisiologia Animal Comparada, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Brasil.

O objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de glutationa reduzida (GSH), atividade da enzima glutamato-cisteina ligase (GCL), capacidade antioxidante total e memória em *Danio rerio* expostos ao pesticida organofosforado metil paration (MP). Foram testados quatro grupos (n=20), três expostos a diferentes concentrações de MP: C1; C2; C3 (0,04; 4,0; 40 μg/L, respectivamente) e um grupo controle. Durante o ensaio os animais foram mantidos 96 h sob condições controladas (26±1°C, 12C:12E, pH 7,1±1). A memória de longa duração foi avaliada pela tarefa de esquiva inibitória. Após, os animais foram sacrificados e logo as brânquias foram dissecadas, homogeneizadas e centrifugadas. O sobrenadante foi usado para dosar os níveis de GSH, atividade da GCL e capacidade antioxidante total. Resultados: (1) a concentração de GSH e atividade da GCL aumentaram em relação dose dependente com o MP ($p<0,05$; ANOVA); (2) houve uma maior competência antioxidante em C3 respeito do controle ($p<0,05$; ANOVA); (3) as três concentrações de MP induziram um déficit da memória de longa duração respeito ao controle ($p<0,05$; Mann-Whitney). Conclusões: (a) o sistema antioxidante das brânquias foi alterado pela exposição ao MP o que indica que estes compostos podem induzir estresse oxidativo; (b) a menor concentração de MP não induziu efeitos a nível bioquímico, mas diminui a memória de longa duração o que indica que o cérebro é o órgão mais sensível ao efeito do MP.

POS 18-06

Influência da radiação infravermelha nos processos de regeneração e muda de *Chasmagnathus granulatus* Dana, 1851 (Grapsidae, Sesarminae). Vinícius Cunha Gonzalez[1], Antônio Sérgio Varela Jr[2], Gilma Santos Trindade[1] [1]Lab. Biofísca, Depto de Ciências Fisiologicas, [2]Laboratório de Histologia, Depto Ciências Morfobiológicas, [1]Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas-Fisiologia Animal Comparada, Fund. Univ Fed. do Rio Grande, Brasil.

A radiação infravermelha (RIV), compreendendo a faixa de 0,7-1000 μm, possui a propriedade de

estimular a proliferação celular, a produção de colágeno, a regeneração de tecidos e reverter danos neuronais, em ensaios com mamíferos. Possivelmente, isto é alcançado através da ativação do citocromo c oxidadase e de um conseqüente aumento metabólico da produção de ATP. Sabe-se que tais efeitos podem ser obtidos sem alteração de temperatura corporal. Contudo, tais relatos existem apenas para humanos e cobaias. O caranguejo *Chasmagnthus granulatus* (C. *granulatus)* é capaz de realizar autotomia, processo este pelo qual o animal desprende uma parte do corpo (pereópodos e quelas), como um mecanismo de defesa contra a predação. Para regenerar os pereópodos autotomizados, o animal necessita realizar uma ecdise. Mesmo recuperando o pereópodo autotomizado, este só irá restaurar seu tamanho máximo após 3 ou 4 ecdises. Seria a RIV capaz de acelerar o processo de ecdise e dessa forma a recuperação de pereópodos autotomizados? Para responder essa questão, um grupo de C. *granulatus* será exposto a RIV em sessões diárias de 15 minutos, durante um mês; enquanto o grupo controle não será exposto a RIV mas receberá o estímulo da temperatura equivalente. Em ambos os grupos, cada espécime estará com os 4 pereópodos esquerdos autotomizados. Os animais (controle e expostos a RIV) serão sacrificados, para análise histológica do regenerado (número de células e tipo celular, conteúdo de colágeno e organização tecidual) ao realizarem a ecdise ou após um mês de exposição, tendo realizado ecdise ou não. APOIO: CAPES e PPGCF-FAC, FURG.

POS 18-07

Efeito da suplementação da dieta com fibras solúveis e o treinamento de natação sobre o número de linfócitos e de macrófagos peritoneiais de ratos. Libardi JM, Possignollo LF, Donatto FF, Verlengia R, Cavaglieri CR, Palanch AC, Lab. Performance Humana, Faculdade de Ciências da Saúde, Univ Metodista de Piracicaba, Brasil.

A suplementação de fibras na dieta exerce efeitos diversos sobre o sistema imunológico, podendo estar relacionado com a ativação de macrófagos, neutrófilos e células "Natural Killer". O exercício físico promove uma melhora da resposta do sistema imunitário. Em virtude de uma alimentação inadequada e da carga de treinamento a que são submetidos, os atletas são susceptíveis à redução da resistência imunitária, sendo mais vulneráveis a infecções oportunistas. Neste trabalho foi observado o efeito da associação de uma dieta suplementada com fibras solúveis e o treinamento de 8 semanas de natação. Para tal, ratos foram divididos nos grupos (n=6): sedentário, sedentário com dieta de aveia, treinado em intensidade leve, treinado em intensidade leve com aveia, treinado em intensidade moderada e treinado em intensidade moderada com aveia. Dessa forma, foram observados o número de linfócitos dos linfonodos mesentéricos, o de macrófagos peritoneais e o de leucócitos circulantes. O número de linfócitos dos linfonodos mesentéricos aumentou em relação ao dos grupos com dieta padrão, independentemente do exercício físico. Em contrapartida, os macrófagos peritoneais apresentaram aumento significativo em seu número devido ao treinamento da natação, enquanto que o número de leucócitos circulantes diminuiu somente no grupo treinado com dieta padrão. Estes resultados sugerem que a presença de fibras solúveis na dieta leva a um aumento na população linfocitária tecidual. Porém, o aumento do número de macrófagos peritoneais ocorreu devido à ação do exercício físico. Ainda, a dieta enriquecida com fibras auxiliou na manutenção do número de leucócitos circulantes nos animais que realizaram treinamento de natação.

POS 18-08

Ação fotodinâmica do benzo[a]pireno em linhagens celulares com e sem o fenótipo MDR. Daza de M. V. B. Filgueira[1,2]; Daiane S. Marques[2]; Gilberto Fillmann[3]; Gilma S. Trindade[1,2]; [1]PPGCF-Fisiologia Animal Comparada; [2]Departamento de Ciências Fisiológicas; [3]Departamento de Oceanografia. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Brasil

Os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) são lançados no ambiente através de fontes naturais ou, na maioria das vezes, pela ação antropogênica. Entre os mais de 100 diferentes PAHs conhecidos, o benzo[a]pireno (BaP) é considerado como o mais fototóxico pela United States Environmental Protection Agency. Tendo em vista que a ação fotodinâmica (AF) é a fotooxidação de moléculas biológicas produzidas pela associação do oxigênio com um fotossensibilizador e que os PAHs podem agir como fotossensibilizadores, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ação fotodinâmica do BaP associado as radiações UVA ou visível (PAR), nas linhagens eritroleucêmicas K562 (células quimiosensíveis, ditas não-MDR) e na linhagem Lucena (células quimioresistentes, ditas MDR) através da análise do número de células viáveis e viabilidade celular. Para isso, as células foram tratadas com diferentes concentrações do BaP (1,08; 2,17; 4,34 ou 8,68 μg/mL) e mantidas em meio RPMI 1640 suplementado, à 37ºC. A viabilidade celular foi avaliada pela técnica de exclusão por azul de trypan imediatamente, 24h e 48h, após a adição do BaP. Para os tratamentos com AF, as células foram irradiadas com 1 J/cm² de UVA ou PAR. Neste tratamento a viabilidade celular foi avaliada também imediatamente após a irradiação. Nossos resultados demonstram que os tratamentos com BaP (sem irradiação) não alteraram o número de células viáveis nem a viabilidade celular ($p>0,05$). Entretanto, o número de células viáveis e a viabilidade celular foram diminuídos pelo tratamento BaP+UVA ($p<0,05$) sugerindo citotoxicidade, já para o tratamento de BaP+PAR somente o número de células viáveis diminuiu ($p<0,05$), o que sugere a ocorrência de inibição de proliferação, desconsiderando o fenótipo MDR.

POS 18-09

Avaliação da atividade citotóxica e antimicrobiana, do extrato alcoólico das esponjas marinhas *Aplysina caissara* e *Dragmacidon reticularis*. Azevedo, L.G.*; Ramos, D.F.; Silva. P.A.****; Trindade. G.*; Lerner, C.**; Soares, A.D***; Mucciillo-Baisch, A.L.* Fundação Universidade Federal do Rio Grande FURG, RS, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Mestrado em Fisiologia Animal Comparada*; Fundação Zoobotânica, RS**; ONG Gota D'Água, SC*** Departamento de Patologia da FURG, Laboratório de Microbiologia ****.

Considerando o potencial de bioatividade dos Poriferos, decidiu-se testar o extrato alcoólico (Ea) das espécies *Aplysina caissara* (Ea*Ac*) e *Dragmacidon reticularis* (Ea*Dr*), quanto a atividade citotóxica e antimicrobiana. As amostras foram coletadas no litoral de Santa Catarina - Brasil e acondicionadas em frascos contendo álcool etílico (92.3%). Os extratos foram obtidos por maceração em metanol (99,8%), filtrados e concentrados em rota evaporador e secos em SpeedVac (Thermo, Savant). O teste de citotoxicidade *in vitro,* foi realizado com as células HTC (hepatoma de rato), através da técnica de extrusão do corante azul de trypan sendo a viabilidade celular aferida imediatamente após a exposição aos extratos (0,5, 1 e 2 mg) e às 24, 48, e 72h. Já a atividade antimicrobiana foi investigada pelo método de micro diluição utilizando a cepa H37Rv de *Mycobacterium tuberculosis*, com os extratos isolados e em presença de concentrações sub-inibitórias de etambutol. Os extratos de Ea*Dr* e Ea*Ac* apresentaram atividade inibitória contra o *M. tuberculosis* com a concentração mínima inibitória (CMI) de 400μg/mL e 100μg/ml respectivamente. A adição do etambutol, potencializou a atividade antimicrobiana para o Ea*Dr*, reduzindo a CMI de 400 μg/mL para 100 μg/mL. Os resultados do teste citotóxico, indicaram que a espécie Ea*Ac* na menor concentração foi capaz de induzir inibição de proliferação celular enquanto que as duas maiores concentrações foram citotóxicas de forma concentração/tempo dependente.

POS 18-10

Sensibilidade de linhagens eritroleucêmicas com e sem o fenótipo MDR expostas ao extrato de cebola (*Allium cepa*). Ana Paula de Souza Votto[1,2], Beatriz Spotorno Domingues[1], Gilma Santos Trindade[1,2], [1]Lab. Cultura Celular, Depto de Ciências Fisiológicas, FURG, [2]Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - Fisiologia Animal Comparada, FURG, Brasil.

Dietas ricas em vegetais têm sido associadas com a diminuição dos riscos de várias doenças, como alguns tipos de câncer. A cebola (A*llium cepa*), um dos vegetais mais usados na alimentação diária, tem sido estudada por seu uso terapêutico como antioxidante e anticâncer. Porém pouco se conhece sobre seu efeito em linhagens celulares tumorais que adquirem o fenótipo de resistência a múltiplas drogas (MDR). Desse modo, o objetivo deste trabalho é avaliar a sensibilidade da linhagem eritroleucêmica humana MDR K562-Lucena1 (Lucena) e de sua linhagem parental K562, a diferentes concentrações (0,5, 1, 2, 4 e 8 mg/ml) do extrato de cebola (EC). As células foram mantidas em meio RPMI-1640 com 10% de soro fetal bovino, 1% de antibiótico e antimicótico, a 37ºC. A viabilidade celular foi avaliada pela técnica de exclusão por azul de Trypan imediatamente, 24, 48 e 72 h, após incubação com o EC. Resultados similares foram encontrados para as duas linhagens celulares. A concentração de 0,5 mg/ml do EC não apresentou diferença significativa em relação às células controle. A concentração de 1 mg/ml induziu uma inibição de proliferação de maneira tempo dependente, sem alterar a viabilidade celular. As maiores concentrações foram citotóxicas de maneira concentração e tempo dependentes, verificado através da diminuição do número de células viáveis e da viabilidade celular. Estes resultados demonstram que o EC é capaz de inibir proliferação e alterar a viabilidade de forma concentração dependente em ambas as linhagens celulares, com e sem o fenótipo MDR, apesar das diferenças encontradas entre estas linhagens.

POS 18-11

Induction of erythropoietin-hypersecretory state by the androgenic steroid 5α-DHT but not by its nonandrogenic isomer 5β-DHT. Ana C. Barceló, Rosa M. Alippi, María P. Martínez, María I. Conti, Carlos E. Bozzini, Lab. Hematología Experimental, Cátedra de Fisiología, Facultad de Odontología, Universidad de Buenos Aires; y Bio Sidus S.A., Buenos Aires, Argentina.

Erythropoietin-hypersecretory state (EPO-HS) is a condition elicited by inducers that is easily observed in hypertransfused-polycythemic rodents, in which hypoxia-stimulated EPO secretion is higher than in polycythemic controls. We have given the name of "steroid-induced EPO-HSs" when the inducers are steroids with different androgenic/anabolic actions. Testosterone (T) has the potential of acting itself or of being metabolized to either 5α- or 5β-dihydrotestosterone (DHT). The former is considered to be androgenic, while the latter is not. This is not true, however, for erythropoietic effects. We report here the results from studies designed to characterize the role of the androgen receptor in mediating the induction of EPO-HS of T. In vivo studies were performed on castrated male CF#1 mice that received 12 injections over a 4-wk period of graded doses of T, 5α-DHT or 5β-DHT (50-3200 μg). After treatment, mice were ip transfused with 1.2 ml of packed red cells and exposed to hypobaric air for 6 h. Plasma EPO was determined by immunoanalysis. Seminal vesicles and kidney weights were registered. Results were statistically analyzed by ANOVA and post-test. The induced EPO-HSs were associated with the androgenic and renotropic actions of testosterone or 5α-DHT; 5β-DHT was ineffective as EPO-HS-inducer. Data indicate that induction by testosterone of an EPO-HS requires the

activation of the androgenic receptor. *Project UBACYT O-012 (University of Buenos Aires)*

POS 18-12

Antiproteolytic effect of pentoxifylline on rat skeletal muscle via cAMP and PKA. Amanda Martins Baviera, Neusa Maria Zanon, Elza Aparecida Filippin, Luiz Carlos Navegantes, Renato Hélios Migliorini, Isis do Carmo Kettelhut. Departments of Biochemistry/Immunology and Physiology, School of Medicine of Ribeirão Preto - USP, Brazil.

Catecholamines, β-adrenergic agonists and dibutyryl cAMP (non-hydrolysable analogue of cAMP), inhibit *in vitro* proteolysis in muscles of normal rats, probably due to mechanisms that involve PKA activation. The objective of the present work was to investigate the *in vitro* effect of pentoxifylline (PTX; cAMP-phosphodiesterase inhibitor) on the rate of protein degradation in rat skeletal muscle, and the participation of cAMP and PKA in the action of this drug. Male Wistar rats (70-80g) were killed and *extensor digitorum longus* (EDL) rapidly dissected and incubated in appropriate conditions. The PTX effect was investigated by addition of 10^{-3}M of the drug in the incubation medium during two hours. The rate of overall proteolysis and the different proteolytic systems (lysosomal, Ca^{2+}-dependent and ATP-proteasome-dependent) was measured by the tyrosine release in the incubation medium. The intracellular levels of cAMP were measured by using an enzyme immunoassay method. The involvement of PKA in the PTX effect was analyzed in muscles incubated in the presence of 50μM H89, a specific PKA inhibitor. PTX *in vitro* induced a significant increase in the cAMP concentration in EDL (663.41±33.44 - PTX *vs* 543.84±22.53 fmol cAMP/mg muscle - control). The rate of overall proteolysis in muscles incubated in the presence of PTX was reduced, as consequence of decrease in the participation of Ca^{2+}-dependent (11%) and ATP-proteasome-dependent (13%) proteolytic pathways. The addition of H89 completely blocked the antiproteolytic effect of PTX on EDL muscles. PTX *in vitro* exerts antiproteolytic effect on skeletal muscle from normal rats through an increase in the cAMP levels and consequent PKA activation. Financial Support: CNPq, FAPESP.

POS 18-13

Sistema telemétrico para aquisição, registro e análise de variáveis fisiológicas e comportamentais sincronizadas. P. Giassi-Junior, J. A. N. Leite, M. A. Sovierzoski, A. A. Hoeller e J. Marino-Neto, Instituto de Engenharia Biomédica (IEB), Laboratório de Neurofisiologia Comparada (LNFc), Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil.

A análise comportamental e eletrofisiológica exige métodos de mensuração complementares para a devida avaliação do registro e subsequente análise das variantes comportamentais e fisiológicas adquiridas. O registro simultâneo e correlacionado permite a obtenção de dados complementares que tornam o estudo mais fidedigno. Este trabalho descreve o desenvolvimento e testes iniciais de um sistema telemétrico para o registro de dados eletrofisiológicos em pequenos animais de laboratório, sendo capaz de adquirir sinais biológicos em diferentes estados comportamentais como sono, vigília e movimentos realizados. A aquisição e digitalização dos sinais eletrofisiológicos é realizada por uma unidade remota, que também executa a transmissão desses dados por infravermelho para uma unidade base. Os dados são analisados e transmitidos a um computador através da interface USB. A alimentação do sistema é realizada por duas baterias de lítio com autonomia superior a três horas ininterruptas. A comunicação entre a unidade remota e a base ocorre através de um transceptor infravermelho, permitindo a realização de experimentos sub-aquáticos e armazenamento dos dados eletrofisiológicos e de imagens (vídeos) comportamentais. Esse sistema torna possível o sincronismo no tempo entre fenômenos comportamentais e fisiológicos emitidos pelo animal durante o experimento em laboratório.

POS 18-14

Efeito do extrato aquoso bruto de flores da *Brugmansia suaveolens* G. Don (1838), (Bercht. *et* Presl.) (Solanaceae) em tarefas comportamentais com ratos da espécie *Rattus norvegicus* (Berkenhout, 1769) (Mammalia: Rodentia). Dickel, Odila E.; Aguiar, Rosiane B.; Mattone, Fani; Perazza, Gianni; Barros, Daniela M. Laboratório do Comportamento, Departamento Ciências Fisiológicas, FURG, Rio Grande, RS, Brasil.

A planta *Brugmansia suaveolens* contém quantidade expressiva de alcalóides tropânicos, apresentando escopolamina em maior quantidade nas suas flores. Doses elevadas deste alcalóide causam estimulação seguida de depressão no sistema nervoso central. Este trabalho analisou o efeito do extrato aquoso bruto (EAB) das flores de *Brugmansia suaveolens* no tratamento agudo (1 dia), utilizando os ensaios comportamentais labirinto aquático de Morris (LAM) campo aberto (CA). No CA os animais foram divididos em quatro grupos (n=10): controle (1ml de solução salina), grupos teste (100 e 300 mg/Kg de EAB), por gavagem e controle positivo (0,5 mg/Kg i.p de escopolamina), 0 min antes de serem submetidos à tarefa. No LAM, os animais receberam salina ou EAB por gavagem 30 minutos pré-teste. As tarefas foram analisadas através do teste ANOVA com pós-teste Tukey ($p<0.05$). No LAM não houve diferença significativa entre os grupos (controle 23,71 ± 3,72; EAB 100 mg/Kg 26,65 ± 3,72; EAB 300 mg/Kg 27,82 ± 3,72). No CA, quando analisados os cruzamentos verificou-se uma diferença significativa entre o controle e a escopolamina (80,20 ± 6,19 e 40,30 ± 6,19 respectivamente) e entre a escopolamina e o EAB 100 mg/Kg (40,30 ± 6,19 e 65,70 ± 6,19 respectivamente).

Quanto à posição bípede houve diferença significativa entre o controle e a escopolamina (40,60 ± 4,02 e 20,60 ± 4,02 respectivamente). Os resultados sugerem que o EAB não apresenta efeito sobre a memória espacial na tarefa LAM. No CA os dados sugerem que a dose de 100 mg/Kg aumenta a atividade locomotora quando comparada à escopolamina, apesar de se locomoverem menos que o controle. Apoio CNPq, FURG

POS 18-15

Expresión de citoquinas inflamatorias en riñón en un estadío temprano de diabetes experimental inducido por estreptozotocina. Melina Pagotto[1], Sara Molinas[1], María F. Toniolo[2], Lorena Roldán, Liliana Monasterolo[1], M. Mónica Elías[1]. Farmacología. Dpto. Cs. Fisiológicas. Fac. Cs. Bioq. y Farm. Univ. Nac. Rosario. Ifise. [1]Conicet. [2]Beca Carrillo-Oñativia. Argentina.

En nuestro laboratorio se ha descripto un cuadro de diabetes a la semana de inducción química, con características típicas de la enfermedad sin llegar a modificación del patrón lipídico ni proteinuria, con alteración de la respuesta renal a vasoactivos y disminución del tono vascular basal del riñón aislado. La bibliografía señala que la evolución a nefropatía se asocia a activación de procesos inflamatorios. Nuestro objetivo fue evaluar distintos mediadores inflamatorios en un estadío temprano de diabetes. Ratas Wistar macho adultas recibieron 50mg/Kg de estreptozotocina (STZ) i.v.. Luego de 7 días se realizaron los experimentos (glicemia: 3.76±0.82g/l). Se realizaron los correspondientes controles (C). Se evaluó la expresión de ARNm deTNFα, IL1β e IL6 en corteza y médula renal mediante RT-PCR, coamplificando actina como control interno. Se analizaron preparados histológicos (hematoxilina-eosina,PAS). En los riñones diabéticos no se encontraron diferencias en los niveles de ARNm de TNFα respecto a C. Se observó aumento de ARNm de IL1β en corteza (C: 0.54±0.07, STZ: 1.22±0.23*, unidades arbitrarias) y en médula (C: 0.72±0.04, STZ: 0.99±0.11*) y una tendencia a aumentar los niveles de ARNm de IL6 en corteza. *$p<0.05$, n= 3 por grupo. El estudio histopatológico mostró hipertrofia glomerular con aumento del penacho capilar, acompañado de infiltrado inflamatorio linfoplasmocitario leve de localización periglomerular y perivascular. Estos resultados indican la activación de procesos inflamatorios en un estadío temprano de diabetes experimental, previo al desarrollo de daños estructurales característicos de la nefropatía diabética.

POS 18-16

Sistema telemétrico para aquisição, registro e análise de variáveis fisiológicas e comportamentais sincronizadas. P. Giassi-Junior, J. A. N. Leite, M. A. Sovierzoski, A. A. Hoeller, L. Schwarz e J. Marino-Neto, Instituto de Engenharia Biomédica (IEB), Laboratório de Neurofisiologia Comparada (LNFc), Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil.

A análise comportamental e eletrofisiológica exige métodos de mensuração complementares para a devida avaliação do registro e subsequente análise das variantes comportamentais e fisiológicas adquiridas. O registro simultâneo e correlacionado permite a obtenção de dados complementares que tornam o estudo mais fidedigno. Este trabalho descreve o desenvolvimento e testes iniciais de um sistema telemétrico para o registro de dados eletrofisiológicos em pequenos animais de laboratório, sendo capaz de adquirir sinais biológicos em diferentes estados comportamentais como sono, vigília e movimentos realizados. A aquisição e digitalização dos sinais eletrofisiológicos é realizada por uma unidade remota, que também executa a transmissão desses dados por infravermelho para uma unidade base. Os dados são analisados e transmitidos a um computador através da interface USB. A alimentação do sistema é realizada por duas baterias de lítio com autonomia superior a três horas ininteruptas. A comunicação entre a unidade remota e a base ocorre através de um transceptor infravermelho, permitindo a realização de experimentos sub-aquáticos e armazenamento dos dados eletrofisiológicos e de imagens (vídeos) comportamentais. Esse sistema torna possível o sincronismo no tempo entre fenômenos comportamentais e fisiológicos emitidos pelo animal durante o experimento em laboratório.

POS 18-17

Proliferative activity during development studied as stochastic point process. J Mazzeo, M Rapacioli, V. Sanchez, G. Scicolone, C. D'Attellis, V Flores. Interdisciplinary Group in Theoretical Biology, Favaloro University.

The generation of complex histological patterns during development requires the organized operation of several developmental cell behaviors, one of them is cell proliferation. Our goal is to design a mathematical model which could help to understand the specific role of proliferation in the CNS morphogenesis. Classical approaches analyze cell proliferation by computing the mitotic index (rate between the number of proliferating cells and the total cell count in a given area) disregarding the local variability On this work we, alternatively, record proliferative activity on a cell by cell basis. We analyze these records as stochastic point processes as a function of space (cephalic-caudal axis) and time (stages of development). Fractal characteristics (self-similarity) were explored by means of DFA, Fano Factor and PSD. As a general rule, results reveal temporal and spatial organization. We evaluated the impact of changes in the spatial resolution of experimental records on the estimation of the scaling index. This was accomplished by processing both experimental and simulated records. Scaling index estimators such as DFA, Fano Factor and PSD were studied. The results of our simulations show that even when resolution changes in several orders of magnitude no significant changes in the estimation of the scaling index is observed. However, if change in resolution exceeds a defined threshold level,

the estimates substantially deviate from the original values. Sensitivity to changes in resolution is different for each one of the algorithms. We also processed experimental records which were built with different spatial resolution. Results agree with predictions provided by simulations. This study emphasizes the fact that the proliferation activity displays a temporal and a spatial organization that cannot be described with classical methods based on the mitotic index. Supported by grants from CONICET and UBACYT (Argentina).

POS 18-18

Alteration induced by zinc deficiency in normal and tumor T lymphocyte activity through the differential modulation of protein kinase C (PKC) isoenzymes. Andrés Orqueda [1], María L. Barreiro-Arcos [1], Miriam Wald[1], Horario Torti[2], Ana M.Genaro[1,3], Graciela A. Cremaschi[1,3]. [1]CEFyBO-CONICET, [2] Laboratorio de isótopos estables, FFyB, UBA, [3]Laboratorio de Radioisótopos, FFyB, UBA, Argentina.

Zinc deficiency has known effects on immune responses and the exact mechanisms involved in its regulation of lymphocyte activity are actually being studied. The aim of this work was to study the direct actions of Zn deficiency in cultured normal and tumor T lymphocytes and to determine the role of PKC, a crucial enzyme for lymphocyte activation, in these events. For this purpose normal T lymphocytes stimulated with the selective mitogen concanavalin A or tumor T lymphoma cells, namely LBC and BW 5147 (BW), were cultured in the absence or presence of specific intra-(TPEN) or extracellular (DTPA) Zn chelators. In both cell lines, proliferation, PKC activity and the pattern of PKC isoenzymes were evaluated. Both TPEN and DTPA inhibited normal and LBC cell proliferation, and their effects were reverted by Zn addition. On BW they also inhibited BW growth to a lesser extent, and their actions were not modified by exogenous Zn. DTPA lowered Zn content in cell pellets and this effect was impaired by Zn addition, as measured by atomic absorption spectroscopy. Proliferative actions of TPEN were accompanied by a decreased in PKC activity and in mitogen induced translocation of the enzyme to cell membranes. Also, a decrease in PKC α and θ isoforms both in normal T and LBC cells treated with the chelators. However, only on normal lymphocytes an increase in the atypical PKC ζ isoform was also observed. These results show that Zn plays an important role in normal and tumor lymphocyte growth, and that its deficiency would alter the expression of key PKC isoenzymes involved in lymphocyte activation.

POS 18-19

Avaliação da dieta a base de refrigerantes de noz de cola em ratos wistar. Maristela Jorge Padoin e Adriana Galafaci. Curso de Ciências Biológicas-Universidade Estadual do Oeste do Paraná-UNIOESTE e curso de Nutrição-Fundação Assis Gurgacz-FAG

Este estudo teve como objetivo avaliar o efeito dos refrigerantes a base de noz de cola em ratos, tanto de procedência e distribuição internacional como regional e analisar os efeitos gerados pela ingestão crônica da bebida e a relação com a atividade física. O experimento foi realizado no laboratório de Fisiologia da Faculdade Assis Gurgacz-FAG, da Cidade de Cascavel - Paraná. A metodologia incluiu a divisão do experimento em grupo: Controle, Noz de Cola I e Noz de Cola II. Cada grupo com N=10. Os animais ingeriram líquido (mL) por 4 semanas e foram avaliados quanto a quantidade de ingestão de líquido e ração (g), e também em relação ao peso (g). Nas 3 semanas seguintes, cada grupo foi redividido, sendo que metade dos animais realizaram atividade física e metade não. Durante essas 3 semanas foram avaliados os mesmos parâmetros que nas 4 semanas iniciais, e ao final também foram analisados os dados de glicemia, gordura peritoneal e análise óssea do fêmur. De modo geral, os resultados mostraram que os refrigerantes a base de noz de cola isoladamente não afetam de maneira direta a elevação de peso. Mesmo com variação dos parâmetros como ingestão de líquido e ração. E que a metodologia de atividade física empregada nesse experimento não foi o suficientemente intenso para gerar uma perda de gordura peritoneal, apesar de ter baixado a taxa glicêmica dos animais que ingeriram refrigerante.

POS 18-20

Ação fotodinâmica da C-Ficocianina em linhagens celulares leucêmicas sensíveis e resistentes a múltiplas drogas. Thaís M. Lopes[1,2], Ana Paula S. Votto[1,2], Liane O. Artico[1], Jorge Alberto V. Costa[3], Suzana J. Kalil [3], Gilma S. Trindade[1,2], [1]Depto de Ciências Fisiológicas, Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG); [2]Programa de Pós Graduação em Ciências Fisiológicas - Fisiologia Animal Comparada; [3]Depto de Química, FURG.

A resistência a múltiplas drogas (MDR) é um fenômeno no qual células tumorais, selecionadas resistentes a um agente quimioterápico, adquirem resistência a outras drogas, aparentemente não relacionadas. Avaliar a capacidade de determinados agentes em vencer esta resistência é um desafio para vários pesquisadores. O pigmento C-ficocianina (C-FC) é um dos constituintes mais abundantes da Spirulina platensis e vem sendo estudado por possuir várias propriedades como antioxidante, antiinflamatório, hepatoprotetor e agente fotossensibilizante. Com isso o objetivo deste trabalho foi comparar a sensibilidade de duas linhagens celulares leucêmicas humanas K562 (não MDR) e K562-Lucena 1 (MDR) ao tratamento de ação fotodinâmica com diferentes concentrações de C-FC (0,025 a 0,40 mg/ml). As células foram mantidas em meio RPMI-1640 com 10% soro fetal bovino à 37ºC. A técnica de exclusão por azul de trypan foi usada para medir o número de células viáveis imediatamente, 24h e 48h após o tratamento. Para determinar a produção de espécies reativas de oxigênio, peroxidação lipídica e dano de DNA foi

utilizada a concentração de 0,10mg/ml. Os resultados mostram uma diminuição no número de células viáveis nas duas linhagens testadas, quando comparadas ao controle, sendo este resultado mais evidente na linhagem não MDR. Nos demais testes não foram verificados efeitos significativos. Estes resultados sugerem que a C-FC seja capaz de inibir a proliferação celular nas menores concentrações testadas possivelmente afetando a expressão de genes envolvidos no processo tumoral.

POS 18-21

Efeitos do Extrato Aquoso da *Ilex paraguariensis* e do Estresse Agudo de Natação sobre a Fragilidade Osmótica das Hemácias, a Freqüência Cardíaca e a Pressão Arterial de Ratos Wistar. Neves, C.A.; Wally, C.; Vianna, C.P.; Lima, C.T.; Santos, D.P.; Vilanova, L.B; França, M.T.; Nunes, M.N.; Damaceno, R.C.; Peraza, G.; Moraes, L.N.; Baisch, A.M.; Lab. de Zoofisiologia e Lab. de Produtos Naturais, Depto de Ciências Fisiológicas, Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, Brasil. Apoio Financeiro: DCF-FURG.

A erva mate *Ilex paraguariensis* apresenta compostos estimulantes, antioxidantes e hemolíticos, capazes de promover modificações na fisiologia cardiovascular. A prática desportiva pode atuar prevenindo e reduzindo fatores de risco para doenças cardiovasculares. Este trabalho estudou os efeitos da natação em ratos machos (7-8 meses) não-treinados, tratados com extrato aquoso de *I. paraguariensis* (EAI), sobre a freqüência cardíaca (FC), fragilidade osmótica das hemácias e pressão sistólica (PS) e diastólica (PD). Estes foram divididos em quatro grupos experimentais: Controle, EAI, Natação e Natação+EAI (NI). O extrato foi administrado por gavagem (500 mg/Kg) 1h antes da natação de 5 min. As FC, PS e PD foram verificadas 1h antes (a) e logo após (d) a natação, medindo a pressão arterial pela artéria caudal e coletado sangue do seio orbital. Alíquotas foram expostas a uma série osmótica (PBS 0,9 e 0,45g/dL) para o teste de hemólise. O grupo Natação teve significativamente mais hemólise que os demais. Nos grupos EAI e NI a hemólise não é estatisticamente diferente daquela do grupo Controle. Para FC, PS e PD não houve diferenças significativas entre os grupos. Contudo, os valores de PS(d) e PD(d) no grupo Natação foram significativamente maiores do que antes do nado. A FC, PS e PD dos grupos EAI e NI não tiveram valores significativamente diferentes antes e depois do nado, nem foram diferentes do grupo Controle. Tais resultados sugerem que o extrato da erva mate *Ilex paraguariensis* pode estar promovendo um efeito protetor, hipotensor, anti-hemolítico, nos ratos que o receberam 1 h antes do nado.

POS 18-22

Fisiologia básica na prevenção ao uso de drogas Bolsista. Rodrigo da Rosa Silveira (821169380-15). Medicina Coordenadora: Fernando Amarante Silva (02155044020) Autores: Valério, I. Sinnott-Silva, E; Amarante-Silva, F; Porto, A.T; Pinheiro, E.C; Silva, M.S; Silveira. R.R; Fernandes, R.C; Ludwig, M.V; Teixeira, M; Alvim, R.P; Silveira, S.E; Tres, A; Gerber, A.F; Pires, A. Departamento de Ciências Fisiológica, Hospital Universitário "Dr Miguel Riet Corrêa Jr". Centro Regional de Estudos, Prevenção de Recuperação de Dependentes Químicos - CENPRE. Rua Visconde Paranaguá, 102. Rio Grande-RS. E-mail: dcffas@furg.br Palavras chaves: Crianças e Adolescentes-Conhecimento fisiológico – Prevenção.

A prevenção é a medida mais eficiente para tratar a dependência química. Neste sentido, o Projeto "De Bem com a Vida", objetiva conscientizar o adolescente do processo de dependência química e provê-lo de informações que possam estimular o auto-conhecimento. Isto visa melhorar sua qualidade de vida e formar um multiplicador prevencionista. Nas suas sexta e sétima ediçõ̃es, realizadas de maio a julho de 2006 no Hospital Universitário da FURG participaram 30 alunos. Foram realizados nove encontros de 4 horas, onde, através de dinâmicas criativas e variadas, bolsistas, estagiários e multiplicadores, supervisionados pela equipe do CENPRE, desenvolveram um programa com informações sobre a fisiologia do corpo humano e da dependência química, alem de abordar aspectos psicológicos, sociais e culturais do homem. O perfil do grupo era composto por jovens oriundos de escolas públicas de 14 a 17 anos. Na avaliação qualiquantitativa, perguntou-se sobre: importância dos temas abordados, relacionamento ministrantes/participantes, nível dos trabalhos e dinâmicas desenvolvidas, nível dos ministrantes, aplicação dos assuntos no seu dia a dia, entendimento dos assuntos, local de realização do Curso. Os dois primeiros foram conceituados como bons, enquanto todos os demais foram conceituados como ótimos. Sobre a capacidade do curso em influenciar positivamente na prevenção e valorização da vida, 92% acharam que houve influência para melhorarem, enquanto 8% disseram que não foram influenciados. Assim, mesmo na dificuldade de avaliar o real impacto de um projeto de extensão que trabalhe com tema tão subjetivo como o risco de exposição às drogas, o projeto "De Bem com a Vida" tem se mostrado cumpridor de seus objetivos iniciais. Apoio: FURG; MEC/ PROEXT- 2005 - PETROBRÁS - COMDICA/RG

POS 18-23

Expressão Gênica de *p53* em Tecido Mamário Normal e Fibroadenoma. Lolita Schneider, Gisele Branchini, Rodrigo Cericatto, Poli Mara Spritzer, Ilma Simoni BrumLaboratório de Endocrinologia Molecular e Neuroendocrinologia, Departamento de Fisiologia/UFRGS; Serviço de Mastologia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

O gene *p53* codifica uma proteína que impede a proliferação celular agindo na regulação do ciclo celular, especialmente na transição de G0 para G1. Os

fibroadenomas são tumores benignos de mama, com alta incidência, cujos mecanismos de desenvolvimento tumoral ainda não foram elucidados. A análise da expressão do *p53* em fibroadenomas em comparação ao tecido mamário normal pode auxiliar no entendimento dos mecanismos envolvidos na formação destas lesões benignas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a expressão gênica de *p53* em amostras de fibroadenomas e tecido mamário normal adjacente. As amostras de tecido mamário normal e fibroadenomas foram coletadas de pacientes submetidas à cirurgia, com aprovação do Comitê de Ética. Foi realizada a extração do RNA total pelo método da Guanidina, seguida de síntese de cDNA. A PCR foi feita utilizando-se oligonucleotídeos específicos para o *p53* e *2-microglobulina* (normalizador). A análise densitométrica das bandas foi realizada em gel de agarose para quantificação. Os resultados foram apresentados como média ± DP da relação *p53/ 2m*. Tecido normal: 0,82 ± 0,08; fibroadenoma: 0,89 ± 0,8; p=0,021. Esses dados indicam uma maior expressão do *p53* no fibroadenoma em relação ao tecido mamário normal. Outros genes estão sendo estudados para auxiliar no entendimento do mecanismo de formação destes tumores, como o *p21*. Financiamento: FIPE/HCPA, PROPESQ/UFRGS.

POS 18-24

Análise do comportamento agressivo maternal em ratas Wistar submetidas a ingesta de água contaminada com glifosato (*Roundup*). Rufino, M. O.*; Geisler, S. A.*; Rosa, L. P.*; Padoin, M. J. Ciências Biológicas e da Saúde-CCBS, Laboratório de Neurociências, UNIOESTE-PR.

O glifosato é um dos herbicidas mais utilizados nas lavouras. O incremento de sua utilização indiscriminada leva a uma contaminação muitas vezes dos lençóis freáticos, comprometendo a água utilizada por animais e até por humanos da area rural. Portanto esse experimento procurou avaliar o efeito desse produto sobre o comportamento em ratos. Para realizar o experimento, foram utilizados 10 casais de ratos *wistar*, os quais foram denominados de grupo 1. Os ratos deste grupo deram origem a 2 outros grupos de proles, 1.1 (n=80), 1.2 (n=80) (todos submetidos à ingesta de água normal, sem contaminação).Para análise experimental foram utilizados 10 casais parentais distintos. Os ratos deste grupo deram origem a 2 outros grupos de proles, 2.1 (n=80), 2.2 (n=80), porém submetidos diariamente a ingesta de água (mL) com *glifosato*, numa concentração de 2gr/L. As ratas, pós parto, eram colocadas juntamente com sua ninhada em caixas de vidro onde eram filmadas no 7^0 dia. A filmagem era realizada durante 10 min. sendo que se iniciava após a colocação na caixa de um rato macho, menor que a fêmea, denominado de intruso. A avaliação posterior das filmagens mostrou que a latência (s) de interação da mãe com os filhotes variou no grupo 1.2 de 49,3 ± 10,6 para 190,8 ± 29,2 do grupo 2.2. A latência de investigação da fêmea ao intruso também variou no grupo 1.2 de 0,7 ± 0,5 para 5,2 ± 1,4 no grupo 2.2. Os demais parâmetros avaliados não mostraram diferentes significantes no teste da ANOVA. Esses resultados nos levam a avaliação de que a ingestão crônica do glifosato gera uma diminuição dos comportamentos maternais, tanto em relação ao cuidado direto do filhote quanto em relação a defesa do local do ninho perante o intruso.

POS 18-25

Acumulação do cobre em células branquiais isoladas de *Mesodesma mactroides* (Mollusca; Bivalvia). Ruiz, J. L.[1], Paganini, C.L..[2], Trindade, G.S.[1,3] & Bianchini, A.[1,2,3] [1]PPG em C. Fisiológicas: Fisiologia Animal Comparada (FURG), Rio Grande, RS, Brasil; [2]PPG em Oceanografia Biológica (FURG), Rio Grande, RS, Brasil; [3]Departamento de Ciências Fisiológicas (FURG), Rio Grande, RS, Brasil. (julianaruiz@octopus.furg.br)

O cobre (Cu) é tóxico às células branquiais isoladas de *Mesodesma mactroides* e essa toxicidade é dependente da concentração do metal no meio e do tempo em que as células são expostas ao contaminante. Em função do acima exposto, o presente trabalho teve como objetivo analisar a acumulação do Cu em células branquiais isoladas de *M. mactroides*. Após o devido procedimento para o isolamento das células branquiais, o cultivo celular foi mantido por 24 h em meio 199 (800 mOsml.Kg^{-1}). O meio de cultura contendo Cu foi pré-equilibrado por 3 h. As células ($1x10^6$ celulas.ml^{-1}) foram expostas às concentrações de 1, 10 e 100 μM de Cu. Após 0, 1 e 6 h de exposição, as células foram coletadas, rapidamente enxaguadas com meio de cultura sem Cu e digeridas com HNO_3 (Suprapur, Merck) para a determinação da concentração de Cu, a qual foi realizada por espectrofotometria de absorção atômica (GBC). No início da exposição, não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) na concentração celular de Cu em relação ao controle (~0,002 μg Cu/10^6 células). Após 1 h de exposição nas concentrações 1 e 10 μM de Cu, as células apresentaram um aumento médio significativo ($p<0,05$) de ~260 e ~350% na concentração de Cu, respectivamente, o qual se manteve até o final do experimento (6 h). As células expostas à 100 μM de Cu apresentaram um aumento médio significativo ($p<0,05$) de ~1470 e ~2330%, após 1 e 6 h de exposição, respectivamente. Estes resultados mostram que o Cu é rapidamente acumulado pelas células branquiais isoladas de *M. mactroides* e que, conforme observado para a toxicidade deste metal, essa acumulação é dependente da concentração do metal no meio e do tempo que o organismo é exposto ao contaminante.

POS 18-26

Exercício físico para portadores do vírus HIV com lipodistrofia associada. Francine Martins Pereira, Neila Cristina Scapini, Robson Michael Delai, Depto de Ciências Biológicas, Faculdade Assis Gurgacz, Cascavel, Brasil.

Um dos efeitos causados pelo vírus HIV é a síndrome

da lipodistrofia, que tem como característica alteração no metabolismo e na distribuição de gordura. Através deste objetivou-se verificar se o exercício físico contribui para a melhora da qualidade de vida dos portadores do vírus HIV com lipodistrofia associada bem como a quantidade destes portadores atendidos pelo CEDIP que realizam exercício físico. O encaminhamento metodológico foi através de pesquisa bibliográfico de artigos científicos publicados, onde e após a aceitação do Comitê de Ética e mediante a autorização do CEDIP, realizou-se questionário investigativo não nominal. O questionário aplicado mediante autorização do termo de consentimento dos indivíduos entrevistados. Obteve-se 17 questionários e os resultados para o numero de indivíduos entrevistados divididos entre categoria sexual - 5 indivíduos do sexo masculino e 12 indivíduos do sexo feminino. O percentual de indivíduos do sexo masculino, classificados por tempo de detecção da síndrome - 60% de 0 a 5 anos e 40% de 5 a 10 anos, e do sexo feminino - 50% de 0 a 5 anos, 25%¨de 5 a 10 anos e 25% de 10 a 15 anos. O percentual de indivíduos do sexo masculino que possuem a lipodistrofia - 20% e que não possuem - 80%, e do sexo feminino que possuem a lipodistrofia - 33% e que não possuem - 67%. O percentual de indivíduos que realizam exercício físico do sexo masculino uma vez na semana - 20%, mais de 2 vezes na semana - 20%, nunca realiza é exercício físico - 60%, e do sexo feminino que nunca realiza exercício físico - 42%, raramente faz exercício físico - 8%, às vezes faz exercício físico - 8%, fazem exercício duas vezes por semana - 17%, e mais de duas vezes na semana - 25%. Conclui-se que embora os entrevistados saibam dos benefícios proporcionados pelo exercício físico, poucos o fazem por não terem indicação correta de como fazê-lo e por não sentirem-se a vontade com a situação. Sugere-se elaboração de material para conscientização.

POS 18-27

Associação de uma dieta rica em fibras solúveis com exercício de natação alteram a morfologia da mucosa intestinal. Possignollo LF, Libardi JM, Donatto FF, Prestes J, Krauss C, Dias R, Frollini A, Verlengia R, Cavaglieri CR, Palanch AC, Lab. Performance Humana, Faculdade de Ciências da Saúde, Univ Metodista de Piracicaba, Brasil.

O intestino delgado apresenta uma mucosa formada por um epitélio colunar simples que repousa sobre uma lâmina de tecido conjuntivo, compondo vilosidades e glândulas intestinais. Os efeitos terapêuticos das fibras estão relacionados com a regularização do trânsito intestinal, por alterar o bolo fecal melhorando a fermentação deste conteúdo. O exercício físico pode causar vários desconfortos gastrintestinais, como: vômitos, dores abdominais e mudanças no fluxo intestinal. Assim, o objetivo deste trabalho foi o de verificar o efeito da associação da dieta contendo fibras solúveis com o treinamento de natação sobre a morfologia da mucosa intestinal de ratos. Ratos Wistar foram divididos nos grupos: sedentários com dieta padrão (SN) e com aveia (SA); treinados em intensidade leve com dieta padrão (TN) e com aveia (TA) e treinados em intensidade moderada com dieta padrão (TNM) e com aveia (TAM). Ainda, parte do grupo treinado leve foi levado à exaustão (TNEx e TAEx). Após 8 semanas de treinamento, uma amostra do intestino delgado foi retirada e preparada para análise microscópica. O tamanho das vilosidades e glândulas intestinais foi medido com auxílio de um sistema analisador de imagens (Image ProPlus). O grupo SA apresentou aumento de 21% na altura das vilosidades e diminuição de 22% no tamanho da glândula quando comparado com SN. O aumento da altura da vilosidade também ocorreu no grupo TA (16,8%) em relação à TN, e em maior proporção (32%) quando comparado ao grupo SN. Porém, nos grupos com aumento da intensidade e do volume do exercício não houve alteração da altura da vilosidade em relação ao grupo SN. Após o treinamento, o tamanho da glândula aumentou em todos os grupos treinados, independentemente da dieta. Os resultados sugerem que o exercício em intensidade leve associado a dieta rica em fibras solúveis aumenta a mucosa intestinal.

POS 18-28

Avaliação biológica dos efeitos do extrato de *Usnea sp* Dill.: ex. Adanson (lichen; *ascomicotyna*) Gianni Goulart Peraza, Ana Luiza Muccillo-Baisch, Lab. Produtos Naturais DCF - Fundação Universidade Federal do Rio Grande (FURG), Brasil.

Na Região Sul do Brasil, Argentina e Uruguai, a população utiliza o chá da "erva da pedra" (*Usnea sp*.- Lichen; *Ascomicotyna*) para o tratamento de enfermidades do trato urinário. Com base nestas informações, o extrato aquoso de *Usnea sp*. foi testado quanto a sua toxicidade, eficiência antinociceptiva e eficiência antiinflamatória. No teste de toxicidade aguda (DL_{50}), o extrato foi administrado a 70 camundongos (*Mus musculus*), por via intraperitoneal, em 7 doses: 2.3, 4.5, 9, 19, 50 e 100 mg/kg de peso. Os animais foram observados durante 72 horas para sinais de mortalidade, não sendo observado efeito letal nestas doses. Para a avaliação da administração prolongada (crônica; 85 dias), sobre o consumo diário de água e alimento, foram utilizados ratos Wistar (*Rattus norvegicus*), adultos, machos; e os resultados indicam ausência de efeitos tóxicos, agudos e crônicos, assim como os resultados da análise sanguínea dos animais tratados. Foi observado um efeito hipoglicemiante nos animais tratados com o extrato, de 100.7±3.06, para 81.29±3.11. No teste de atividade antiinflamatória, realizado com ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) não foram verificados efeitos. Os testes de atividade antinociceptiva foram realizados com camundongos (*Mus musculus*). No teste de contorções abdominais a porcentagem de inibição das contorções foi de 97.9 e 98.4%, para as doses de 50 e 100 mg / kg de peso, respectivamente. No teste da formalina, a porcentagem de inibição do ato de morder, agitar ou lamber a pata,

foi de 52.0 e 74.5% de inibição, na primeira fase da dor (0-5 min.), nas doses de 50 e 100 mg / kg, respectivamente, e de 100% em ambas as doses na segunda fase (20-25 min.). No teste do hot plate, houve um significante aumento no tempo de reação ao estímulo térmico em todos os tempos testados, em ambas as doses. Estes resultados sugerem que o extrato aquoso de *Usnea sp*., nas doses testadas, possa exercer ação analgésica mas não ação antiinflamatória.

POS 18-29

Avaliação do efeito de diversos tipos de ácidos graxos sobre a expressão de citocinas em hipotálamo de ratos. [1]Marciane Milanski; [2]Andressa Coope; [3]Vanessa Cristina Arantes; [4]Dennys Esper Cintra; [4]Licio Augusto Velloso. [1]Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso/HRC - Brasil; [2]UNICAMP - Fisiopatologia Médica - Brasil; Departamento de Alimentos e Nutrição - UFMT- Brasil; [4]FCM - UNICAMP - Clínica Médica - Brasil.

A ingestão de dieta rica em lípides induz a expressão de proteínas de resposta inflamatória em regiões do hipotálamo ligadas ao controle da fome e termogênese. Esta resposta pró-inflamatória promove a ativação de proteínas com atividade serina quinase e de proteínas inibitórias da sinalização celular, as quais têm papel central na indução da resistência hipotalâmica à ação da insulina e leptina. Avaliar o efeito de diversos tipos de ácidos graxos sobre a expressão de citocinas em hipotálamo de ratos. Ratos Wistar, machos de ~ 300 g, foram submetidos à canulação de ventrículo lateral e tratados por via ICV com combinações de ácidos graxos. Na primeira etapa os animais foram divididos em 4 grupos: controle (BSA), ac. oléico (AO), mistura de saturados (MS) (ac. esteárico:ac. behênico: ac. palmítico: ac. aracdônico - 25:25:25:25), mistura vegetal (MV) (ac. oléico:MS:ac. linolênico: ac. linolêico - 20:20:30:30). A expressão de TNF-a, IL-1b, IL-6 e IL-10 foi avaliada por imunoblot e a determinação de ácidos graxos foi realizada por método colorimétrico. Na segunda etapa, ácidos graxos presentes no grupo que apresentou maior efeito inflamatório foram utilizados isoladamente para tratamento ICV e novamente a avaliação da expressão de citocinas foi executada. Na primeira etapa observou-se que maior expressão de citocinas pró-inflamatórias foi obtida com tratamento ICV com MS ao passo que a maior expressão de IL-10 foi obtida com AO. Na segunda etapa, comparando-se os efeitos isolados de ac. esteárico, ac. behênico, ac. palmítico e ac. aracdônico detectou-se maior efeito pró-inflamatório para o ac. behênico. Misturas ricas em ácidos graxos saturados exercem o maior efeito pró-inflamatório sendo o ácido behênico o componente individual com efeito pró-inflamatório mais potente. Apoio Financeiro: Fapesp, Capes.

POS 18-30

Atividade do sistema enzimático citocromo p450 em *Cantareus aspersa* exposto à poluição atmosférica na região metropolitana de Porto Alegre, RS, Brasil. [1,3]Porawski, M.; [2,3]Bona, S.; [2]Schröder, N.T.; [2,3]Marroni, N.; [1]Lab. de Fisiologia da Conservação, Faculdade de Biociências, PUCRS; [2]Lab. de Estresse Oxidativo-ULBRA, Canoas-RS e [3]Lab. de Fisiologia e Hepatologia Experimental - HCPA, POA-RS, Brasil.

A exposição de organismos a ambientes poluídos aumenta a atividade do citocromo P450 responsável pela detoxificação de muitos poluentes. A região metropolitana de Porto Alegre apresenta um grande número de fábricas e rodovias com intenso fluxo de automóveis provocando poluição. O objetivo foi avaliar o efeito da poluição atmosférica sobre a atividade do sistema enzimático citocromo P450 na glândula digestiva de animais expostos ao ambiente. Utilizou-se o molusco *Cantareus aspersa* (n=15), divididos em: grupo controle (Co) mantidos durante 7 dias no laboratório de pesquisa e grupo exposto ao ambiente (E) mantidos durante 7 dias na Estação de Climatologia da ULBRA. Após a exposição, os animais foram crioanestesiados e foi retirada a glândula digestiva (GD) que foi processada para o isolamento dos microssomos onde foi medida a atividade do citocromo b5, P450 e P420 por espectrofotômetro. Os resultados aparecem como média±desvio padrão, a análise estatística foi test T Student, com $p<0,05$. Os animais expostos à poluição apresentam aumento significativo na atividade do citocromo P450(C0=211,41±20,97; E=254,19±29,83) e também das outras enzimas associados ao sistema: b5 (Co=55,16±2,7; E=66,4±6,1) e P420 (Co=407,15±36,2; E=473,64±39,23). Os dados sugerem que os animais expostos ao ambiente da região metropolitana de Porto Alegre necessitam ativar seus sistemas de detoxificação para manterem suas atividades normais. Apoio Financeiro: FAPERGS, FIPE.

POS 18-31

Padronização de protocolo de exaustão em esteira ergométrica com intensidade progressiva para ratos Wistar. Eduardo Borges[1-2]; Roberto Vazatta[2]; Sérgio Paulo de Tarso Domingues[1-2]; Luis Felipe Milano Teixeira[1-2]; Rozangela Verlengia[1]. [1]Núcleo de Performance Humana–Mestrado em Educação Física, Faculdade de Ciências da Saúde-UNIMEP, Piracicaba–SP, Brasil; [2] Instituto Superior de Educação UIRAPURU / NEPECE - Núcleo de Estudos e Pesquisa em Ciências do Esportes, Sorocaba/SP.

OBJETIVO: Padronizar um protocolo de exaustão em esteira ergométrica para ratos sedentários, a partir da máxima fase estável do lactato no sangue (MLSS). **MÉTODOS:** Foram utilizados ratos Wistar machos com 90 dias de vida e peso entre 250/350g. Inicialmente, um grupo de animais (N=8) foi submetido a protocolo de determinação de limiar anaeróbio (LAn) e OPLA a partir do qual foi elaborado o protocolo de exaustão. Subsequentemente, 30 animais foram submetidos ao protocolo de exaustão. **RESULTADOS:** O LAn encontrado teve velocidade correspondente a 26m/min por 10º de inclinação. O OPLA teve velocidade correspondente

a 17m/min por 10º. O protocolo de exaustão fez com que 76,7% dos animais chegassem à exaustão na velocidade de 25 m/min por 10º de inclinação e 23,3% à 21m/min por 10º, o tempo médio foi de 60 minutos. **CONCLUSÃO**: Os dados permitem concluir que estudos que visem levar ratos Wistar sedentários à exaustão com lesão tecidual por estresse mecânico e metabólico em esteira ergométrica devem iniciar o exercício de exaustão em uma intensidade que não seja superior a 21m/min por 10º, obtendo assim volume e intensidade de exercício que garantam os efeitos desejados.

GE Healthcare

Convirtiendo Ciencia en Vida

Cuando se trata de Ciencias de la Vida, GE Healthcare esta marcando los estándares. Cientos de miles de científicos en más de 100 países alrededor del mundo confían en nuestros productos cada día. Hemos distribuido más de 60.000 sistemas de purificación de proteínas para investigación, 1500 Sistemas BioProcess™ y 12.000 Columnas BioProcess™. Nuestra Familia Amersham de consumibles, con un legado de mas de 60 años, esta ayudando a lograr resultados sorprendentes cada día.

Pero aun así, nunca nos conformamos y seguimos en movimiento. Buscamos innovaciones para la investigación futura y el desarrollo de drogas.
El resultado son productos como la plataforma ÄKTAdesign™, IN Cell Analyzer, Ad-A-Gene Vectors y MabSelect ™. Gracias a nuestros logros tecnológicos y una presencia global, somos capaces de ayudarlo a convertir sus ideas científicas en realidad - convirtiendo a la ciencia en vida y ayudando a transformar el área de la salud.

A esto llamamos Re-imaginar las Ciencias de la vida.

Descubra aun mas en: www.gehealthcare.com/life

(011) 4576 3030 · sales.ar@ge.com

GE imagination at work

Addendum

A) La siguiente información debe adicionarse a la presentada en el Programa y Libro de Resúmenes/*Following information must be added to the one presented in the Program and Abstract Book*:

Conferencia/*Conference*	**Presidencia/*Chairperson***
PL 1	Mario Parisi
PL 2	Osvaldo Uchitel
TL 01	Helena Lascano
TL 02	Valeria Rettori
TL 03	Cecilia Hidalgo
TL 04	Claudia Capurro
TL 05	Hugo Ramos
TL 07	Mónica Elías
TL 08	Ricardo Pichel
TL 09	Leon Ferder
TL 10	Daniel Cardinali
TL 11	Ana Balaszczuk
TL 12	Ruben Laguens
TL 13	Alicia Mattiazzi
TL 14	Horacio Cingolani
TL 15	Jaime Moguilevsky
TL SH	Paulo Tucci

Simposios/*Symposia*	**Presidencia/*Chairperson***	**Co-Presidecia/*Co-Chairperson***
SYMP 01	Carlos Villalón	Branco Mautner
SYMP 02	Ricardo Velluti	Belén Elgoyhen
SYMP 03	López Barneo	Paula Ford
SYMP 04	R Montoreano	R De Los Santos
SYMP 05	Horacio Cingolani	Oscar Carretero
SYMP 06	Eduardo Spinedi	Ma Lee Wong
SYMP 07	M. Rosalina Guevara Guzmán	Selva Rivas
SYMP 08	Oscar Candia	Mario Wolosin
SYMP 09	A. J. De Bold	Laura Vivas
SYMP 10	Fernando De Castro	Laura Lopez Mascaraque
SYMP 11	Gerhard Malnic	Nesmo Yeyati
SYMP 12	Eduardo Artz	Valeria Rettori
SYMP 13	José Antunes Rodrigues	Marcelo Vatta
SYMP 14	Jaime Moguilevsky	Diana S Wuttke
SYMP 15	M. T. Herrero Ezquerro	Rita Raisman Vozari
SYMP 16	Alberto Boveris	José Poderoso
SYMP 17	Paulina Donoso	Alicia Matiazzi
SYMP 18	Constancio González	Rodrigo Iturriaga
SYMP 19	Javier Salazar	Ana M. Balaszczuk
SYMP 20	Diego Golombek	Horacio de la Iglesia
SYMP 21	Ana Franchi	Dalmasia Becu
SYMP 22	Luisa Lilia Rocha Arrieta	Sandra Orozco Suarez
SYMP 23	Diego Golombek	Mario Guido
SYMP 24	Ofir Picazo	Alejandro De Nicola
SYMP 25	Jesús Tresguerres	Victoria Cachofeiro
SYMP SH1	Paulo Tucci	Antonio Campos de Carvalho
SYMP SH2	Gina Sánchez	Alejandro Aiello

B) CONFERENCIAS TEMÁTICAS/*THEMATIC CONFERENCES*

Se confirma la Conferencia del Dr. Licinio: Conferencia Temática TL 02 (*Dr Licinio Conference is confirmed).*

C) SIMPOSIOS/*SYMPOSIA*

Se agrega la participación de la Dra. Lisandra Margatho, SYMP 06-02 *(Dr Lisandro Margatho presence is added (Symp-06-02)*

D) POSTERS/*POSTERS*

1) Serán presentados en las correspondientes sesiones /*Will be presented in the correspondig sessions*:

Fernandes	POS 01-52
Duarte TT	POS 06-78
Simao da Silva	POS 06-79
Ramirez MR	POS 06-80
Kaiser D	POS 06-81
Trumper	POS 15-29
Treichel Giesel	POS 16-52
Scomparin	POS 16-53
Marroni	POS 18-32

2) Algunos autores no consideraron adecuada la ubicación decidida por la organización del Congreso. Ellos nos transmitieron sus preferencias e informamos al respecto al resto de los participantes./*Some authors that did not considered adequate the attributed session. We are informing about their preferences*:

POS 09-01 (autor responsable/*responsible autor:* Nabhen): correspondería a (*prefers*) Sesión 6, SNC (CNS).
POS 11-05 (autor responsable/*responsible autor:* Renard): correspondería a (*prefers*) Sesión 10 (Stress).
POS 18-15 (autor responsable/*responsible autor:* Pagotto): correspondería a (*prefers*) Sesión 15 (Fisiología Renal).

E) ACLARACIONES Y ERRATAS/*CLARIFICATIONS AND ERRORS*

En Conferencistas y Responsables de Póster del Libro de Resúmenes/*In Speakers and Poster Responsables List (Abstract Book)*:

Dice/*It says*	**Léase/*It must say***	
Alfonso	Alfonso Pallares	POS 06-01
Cervantes	Cervantes Cianca	POS 06-03
Duarte	Amaral Duarte	POS 16-21
Ferreira	Ferreira Rosemary	POS 16-42
Ferreira	Ribas Ferreira	POS 06-71
Lima Fernanda	Barbosa Lima F	POS 05-12
Lopes Thais	Martins Lopes T	POS 18-20
Loreto Carrasco	Carrasco L	POS 01-35
Monteiro	Monteiro Andrea	POS 05-05
Monteiro	Monteiro Siomara	POS 05-06
Navarro Meza	Rivera Cervantes	POS 06-19 (antes POS 06-79)
Pallarés	Cutrera	POS 10-11
Parfundo	Pafundo	POS 03-34
Ramirez	Bautista Ramirez	POS 12-03
Rivera Maria		Anulado (antes POS 06-19)

Simao de Silva	Dos Santos, Murilo	POS 06-64
Souza Dutra	Dutra de Souza	POS 01-19
Valle	Costa Valle	POS 16-35

F) CANCELACIONES/*CANCELLATIONS*

Han cancelado su presencia en el Congreso por razones de fuerza mayor/*Because personal problems assistance was cancelled*:

Dr Carlo Caputo: TL 06.
Dr Guillermo Whittembury: SYMP 03.
Dr Homero Rubbo: SYMP16-2.

G) CURSO/COURSE

El siguiente Curso es propuesto por el Dr. Carlos Lantos./ *The following course was propossed by Dr Carlos Lantos*:

REUNIÓN INTERDISCIPLINARIA INFORMAL POST CONGRESO

Lunes 13 de noviembre

ORÍGENES DE LAS CORRELACIONES ENTRE PROPIEDADES BIOFARMACOLÓGICAS Y ESTRUCTRAS 3D DE MOLÉCULAS-LIGANDO ACTIVAS

Dirigida a biólogos moleculares, químicos orgánicos (de síntesis, modelado y tecnología de imágenes), bioquímicos, biofísicos y biólogos involucrados en evolución.
La idea es escuchar, aprender y, sobre todo, aprender a hablar el mismo idioma. Algo así como lo que ocurrió entre fisiólogos y los primeros "cibernéticos" en los albores de la informática moderna.
Los interesados contactar al Dr. Carlos P. Lantos (clantos@qb.fcen.uba.ar).
Ideas de toda índole, inclusive organizativas, son bienvenidas.

THEMATIC LECTURES

TL 02

Combined role of chemokines and extracellular matrix upon thymocyte migration in health and disease. Wilson Savino, Laboratory on Thymus Research, Department of Immunology, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil e-mail: savino@fiocruz.br.

Cell migration is crucial for intrathymic T-cell differentiation. Chemokines and extracellular matrix proteins *per se* induce thymocyte migration, and recent data suggest a combinatorial role for these molecules in this event. For example, thymocyte migration induced by fibronectin plus CXCL12/SDF1-α (stromal cell-derived factor1-α) is higher than that elicited by the sum of the chemokine and fibronectin, when applied alone. If such interactions are relevant in the thymus, abnormal expression of any of these ligands and/or their corresponding receptors will lead to defects in thymocyte migration. At least in the murine model of Chagas disease, this seems to be the case. In the context of *T. cruzi* infection, was detected an increase in the intrathymic deposition of CXCL12, with enhanced co-expression of this chemokine and fibronectin. Moreover, thymocytes from infected animals exhibited higher membrane levels of the fibronectin receptors VLA-4 and VLA-5, as well as the CXCL12 receptor, CXCR4. Functionally, thymocytes from infected animals migrated significantly more than control thymocytes, particularly when CXCL12 was applied as chemoattractant. Furthermore, CXCL12 plus fibronectin showed significant synergy upon $CD4^-CD8^-$ and $CD4^+CD8^+$ immature thymocyte migration. Such a complex effect may be at the origin of the abnormal release of immature cells from the thymus in experimental Chagas disease, which in trn may be relevant for the development of autoimmunity. Thus, it seems clear that a better knowledge of this complex biological circuitry will provide new clues for understanding thymus physiology and designing therapeutic strategies targeting developing T cells.

SYMPOSIA

SYMP 06-02

Serotonergic receptor in the lateral parabrachial nucleus modulates neuroendocrine responses after an acute blood volume expansion. Lisandra Oliveira Margatho. Department of Physiology, School of Medicine of Ribeirão Preto, University of São Paulo (USP), São Paulo, Brazil.

Previous bilateral injection of serotonergic receptor agonist (DOI) into the lateral parabrachial nucleus (LPBN) in rats submitted to isotonic BVE (BVE, 0.15 M NaCl, 2ml/ 100g bw) enhance the normally observed increase in sodium/potassium and urinary volume excretion compared to control. Conversely, bilateral injections of serotonergic receptor antagonist (methysergide) into the LPBN reduced the increase in sodium/potassium and urinary volume excretion in response to BVE.It was also examined the changes in OT, ANP and AVP plasma levels after BVE in rats pre-treated with methysergide or DOI injections into the LPBN. The pretreatment with methysergide reduced the normally BVE-induced increase in atrial natriuretic peptide (ANP) and oxytocin (OT) plasma levels, with an increase in vasopressin (AVP) plasma levels. The pretreatment with DOI into the LPBN potentiate the normally BVE-induced increase in ANP and OT plasma levels, with no changes in AVP plasma levels. In addition, BVE performed in rats previously submitted to injections of DOI into the LPBN produced a significant increase in the c-fos-OT-ir in the medial magnocelular subdivision of the PVN when compared to control group. Previous injection of methysergide into the LPBN induced a significant increase in the c-fos-AVP-ir in the lateral magnocellular subdivision of the PVN and SON. These results demonstrated the participation of specific PVN and SON nuclei groups of oxytocinergic-vasopressinergic cells in this experimental protocol. In conclusion, the present data confirm the participation of serotonergic pathways in the LPBN in the neural regulation of hydromineral homeostasis, modulating water and electrolyte excretion, as well as the release of AVP, OT and ANP in response to isotonic BVE. This work was supported by grants from FAPESP, PRONEX, CONICET and CNPq.

POSTER PRESENTATION

POS 01-52

Ventricular performance in the early and late phase after myocardial infarction in heart failure and asymptomatic rats. Aurélia A. Fernandes, Fabiana D.M. Siman, Vitor F. Souza, Dalton V. Vassallo, Ivanita Stefanon, Depto de Ciências Fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil.

Coronary artery ligation has been used to induce myocardial infarction (MI). This study analyzed the right and the left ventricular performance in infracted rats showing identical scar area at 1 and 8 weeks (WK) after surgery. Infarcted rats with heart failure (INF-HF) were compared with asymptomatic rats (INF) and a control operated group (SH). The left end diastolic pressure increased in the INF-HF group at 1 WK and 8 WK, but remained normal in the INF group compared to SH. The increased RV weight to body weight ratio and the lung weight to body weight ratio differentiated rats with HF (INF-HF) from asymptomatic rats after infarction (INF). Isometric contractions from right ventricle strips (RV) and left ventricle (LV) papillary muscles were studied using a isometric force setup measured in the presence of $[Ca^{2+}]_e$ and isoproterenol (ISO). At 1 WK the $[Ca^{2+})_e$ and ISO RV inotropic response were preserved in the INF-IC group but it were reduced in the INF group (Ca^{2+} 3.75mM: SH=262±22; INF-HF=240±14; * INF=170±11mg/g, *P<0.05); ISO (5.10^{-5}M: SH=236±9; INF-HF=262±22; *INF=158±12 mg/g, *P<0.05). At 8 WK the $[Ca^{2+}]_e$ and ISO RV inotropic response were preserved in the INF group but it were reduced in the INF-HF group (Ca^{2+} 3.75mM: SH=163±18; INF=148±19; *INF-HF=68±11mg/g, *P<0.05); ISO (5.10^{-5}M: SH=151±15; INF=134±17; *INF-HF=52±7 mg/g, *P<0.05). The LV papillary muscles positive inotropic response was reduced in the INF and INF-HF group at 1 and 8 WK. We concluded that MI induces a reduction on the LV contractility independent of the heart failure process. The RV contractility was preserved in the initial phase of heart failure but it was reduced at 8 WK. The results suggest the existence of different remodeling mechanisms in the RV and LV after MI in rats with same scar area depending on the process or absence of HF. Finance support: FAPES/FUNCITEC

POS 06-78

Connections between the dorsocentral telencephalon and regions involved in processing multi or electrosensory informations in the weakly electric fish *Gymnotus carapo*. Duarte TT; Pereira, ASF; Hoffmann, A; Corrêa, SAL. Department of Physiology, FMRP, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil. Department of Anatomy, University of Bristol, Bristol, UK.

In a previous study we observed that electrolytic lesions of the dorsocentral telencephalon (Dc) blocked the modulations of the electric organ discharge (EOD) and motor activity produced by the microinjection of bicuculline into the dorsolateral telencephalon of *Gymnotus carapo* (unpublished results). In accordance with these results we hypothesize that Dc could be the main source of extratelencephalic efferents to specific diencephalic and mesencephalic nuclei involved in the electro e skeletomotor response described above. To provide anatomical support for this assumption, biotinylated dextran amine (BDA) was injected into the Dc and into the preglomerular nucleus (PG), optic tectum (TeO) and torus semicircularis dorsalis (TSd), regions that are all involved in the processing of electrosensory and/or multisensory information. After iontophoretic injections of the BDA into Dc, varicose fibers are seen in the PG, in the central and periventricular zones of the TeO, layer VIII of the TSd, as well as backfilled neurons in the lateral and medial preglomerular nuclei. Depositions of the tracer into these structures confirm these connections. Our results suggest three potentially pathways that leave the dorsocentral telencephalon: one involves its reciprocal connections with the PG that is directly interconnected with the central posterior/prepacemaker nucleus (CP/PPn), which plays a role in neural control of transient EOD modulations; another involves its connection with the TeO, which is also directly connected to CP/PPn and the third pathway involves its connection with the TSd that has a projection to the nucleus electrosensorius (Teixeira Duarte, T., Hoffmann, A., Pereira, A.S.F., Corrêa, S.A.L., Brain Res 1092: 117-128, 2006), which in turn projects to CP/PPn. Our data also provide anatomical support for the motor activity and raise the possibility that Dc may affect indirectly premotor centers since the TeO and the TSd are directly connected with rhombencephalic reticular nuclei.

POS 06-79

Controle orexinérgico do alerta e ingestão de alimentos em pombos (*Columba livia*). Eduardo Simão da Silva, Thiago Viçoso dos Santos; Ana Isabel Penzlin; Murilo Marcos dos Santos; Bruno Blanco Araújo; Moacir Serralvo Faria; Marta Aparecida Paschoalini; José Marino Neto. Lab. de Neurofisiologia Comparada, Depto. de Ciências Fisiológicas-CCB-UFSC, Florianópolis, SC, Brasil

As orexinas (ORX, A e B) têm sido largamente estudadas em mamíferos. Injeções intracerebroventriculares (icv) de ORXA aumentam a atividade exploratória e ingestão de alimentos em ratos. Embora detectada no cérebro de aves, pouco se sabe sobre a ação da ORXA no sistema nervoso desses animais. Neste trabalho examinou-se os efeitos comportamentais e ingestivos da injeção ICV de ORXA (0,2 ou 0,6 nmol) ou veículo (VE, NaCl 0,9%, 2 ul), em pombos (N=8, adultos), cronicamente implantados com cânula-guia no ventrículo lateral. Por 1 hora após a injeção, registrou-se os comportamentos ingestivos, de auto-limpeza, sono, exploração/locomoção. As injeções icv de ORX-A

(0,6 nmol) diminuíram o tempo total de sonolência (202±187s; VE=1055,8±339 s) e a latência para locomoção nas (226±54s; VE =1767,5±563s), aumentando o tempo total de exploração (2553±68,4 s; VE =951±282s). Por outro lado, não afetaram significantemente a ingestão de alimentos (VE = 2,77±0,65 g; 0,2nmol= 4±1,32; 0,6nmol = 6,46±3,21 g). Os resultados indicam que injeções ORX-A aumentam a freqüência e tempo gasto em comportamentos de alerta, e diminui a duração do sono, sugerindo que os efeitos comportamentais da ORX-A neste domínio funcional (mas não no balanço energético) em pombos são similares aos observados em mamíferos os dados apóiam a idéia de que os papeis da ORX-A na regulação da ingestão de alimentos e de comportamentos típicos de vigília podem representar atributos conservados nos amniotas. Suporte: CNPq, CAPES.

POS 06-80

Neuroprotective effects of poliphenols intake in rodents. Maria Rosana Ramirez,[1*] , Laura Geracitano[2], Daniela Martí Barros[2], Olavo B. Amaral[3], Amélia Teresinha Henriques[1]. [1]Faculdade de Ciências Farmacêuticas, [3]Dep. Bioquímica - ICBS, UFRGS-PoA, [2]Departamento de Ciências Fisiológicas, FURGS-RS-Brazil.

Studies have shown that supplementation with poliphenols, including anthocyanins are effective in reducing oxidative stress associated with aging, and are beneficial in reversing age-related neuronal and behavioral changes. However, there are few reports on other biological activities of these polyphenols, such as genoprotective effects. The present experiments were performed to study the possible effects of 30-day administration of a lyophilized extract of *Vaccinium* on DNA damage in the hippocampus and cerebral cortex. The subjects were adult male Wistar rats and Swiss mice (n=10). The daily quantity of extract offered to the animals was calculated to provide 2.6 - 3.2 mg/kg/day oral of anthocyanins. Data are expressed as mean and standard errors and analyzed with one-way ANOVA. Treatment with lyophilized extract significantly decreased the DNA damage in hippocampal tissues in comparison to the respective control groups as evaluated by the single cell electrophoresis (comet) assay ($P<0.05$). These results suggest that supplementation with *Vaccinium* to rodents has a protective effect on DNA damage, possibly due to the antioxidant activity of polyphenols, these effects may contribute to the prevention of age-related and pathological degenerative processes in the brain. (PROPESQ/UFRGS, CNPQ, FAPERGS, EMBRAPA).

POS 06-81

Efeito da Desidroepiandrosterona (DHEA) sobre a captação de glicose *in vitro* em encéfalo de ratos machos. Danielle Kaiser; Gabriela Lima; Daiane Janner; Maria Helena Jacob; Susie Andrade; Matheus Jahn; Maria Flávia Marques Ribeiro; Luiz Carlos Kucharski. Laboratório de Endocrinologia Comparada. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil.

Hormônios esteróides, como por exemplo a DHEA, são sintetizados no sistema nervoso central (SNC) e por isso são chamados de neuroesteróides. A DHEA pode ter ações sobre receptores de neurotransmissores e ações genômicas esteroidais. Há indícios de que a DHEA pode diminuir o metabolismo oxidativo cerebral *in vitro* (Morin e cols, 2002) e estimulá-lo *in vivo* (Patel & Katyare, 2006). O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da DHEA *in vitro* sobre a captação de glicose em diferentes regiões do encéfalo. Foram usados ratos machos Wistar (90 dias de idade), provenientes do Biotério do ICBS-UFRGS. Os animais tiveram livre acesso à ração e água e permaneceram em temperatura de 22 ± 4°C e ciclo claro/escuro de 12 horas. Foram decapitados por guilhotina, os tecidos dissecados (hipocampo, hipotálamo, bulbo olfatório e córtex) e incubados em 500µl de solução fisiológica com ciclodextrina (meio controle) e duas concentrações de DHEA (10^{-8} ou 10^{-12}M) mais 2-Deoxi-^{14}C-Glicose (0,15µCi/tubo) e 10mM de lactato por 90 minutos. Após a incubação os tecidos foram lavados e processados para determinação da captação de glicose. Não houve diferença significativa na captação de glicose no hipocampo e hipotálamo incubados com DHEA. No córtex houve aumento na captação de glicose após incubação com DHEA 10^{-8}M ($p = < 0,001$) e no bulbo olfatório após DHEA 10^{-12}M ($p = 0,005$). Os resultados demonstram que a DHEA pode modificar a captação de glicose no bulbo olfatório e córtex.

POS 15-29

Participación de HSP 70 durante el deterioro y la recuperación de la función renal en un modelo de nefrotoxicidad por paracetamol (APAP) en ratas. Nahuel Wayllace, Sara Molinas[1], Liliana A. Monasterolo[1], M. Mónica Elías[1], Laura Trumper[2]. Farmacología. Facultad de Cs Bioq. y Farm. UNR. [1]CONICET-[2]CIUNR.

Distintas HSPs han sido descriptas como protectoras del epitelio renal ante diversas injurias. En nuestro laboratorio desarrollamos un modelo de nefrotoxicidad por APAP. Mediante la extractabilidad en Tritón, demostramos el desprendimiento y el restablecimiento de la unión de Na^+, K^+ ATPasa (NaK) al citoesqueleto durante el deterioro y la recuperación de la función renal En el presente trabajo analizamos si HSP 70 acompaña a la redistribución de NaK durante el daño y la reversión, evaluando su presencia en homogenados (H) de corteza renal y su distribución en las fracciones solubles (S) e insolubles (I) en Tritón. Se evaluó además la excreción urinaria de HSP 70. Se trabajó con ratas Wistar macho adultas que recibieron una dosis de APAP de 1000 mg /Kg p.c, i.p..Luego de 6 (A6), 16 (A16) y 48 hs (A48) se obtuvo una muestra de sangre y una de orina por punción vesical y se extrajeron los riñones. Se realizaron los correspondientes controles (C). Las cortezas renales se homogeneizaron en buffer con Tritón X-100 0.1%, se tomó una muestra de H y mediante centrifugación se obtuvieron las fracciones S e I. Se determinaron los niveles plasmáticos de creati-

nina (C=8.5 ± 0.37**,** A6=21.3 ± 4.7*, A16=28.2 ± 1.63*, A48=11.5 ± 3 mg/dl, *p< 0.05 comparado vs C). En H, S, I y en las orinas se evaluó la presencia de HSP 70 por Western blot. En todos los grupos tratados con APAP hubo un aumento de HSP 70 en H, y en las fracciones S e I, siendo de mayor magnitud el aumento en S. HSP 70 se detectó sólo en las orinas de los grupos A6 y A16. Tomados en conjunto estos resultados estarían indicando la participación de HSP 70 en la respuesta al daño tóxico por APAP. La excreción urinaria de esta proteína sería un indicador de la pérdida de la integridad de las células tubulares, la que se restablecería luego de 48hs con la recuperación de la función renal.

POS 16-52

Effects of carbohydrate supplementation during high intensity intermittent exercise on glucose metabolism in rats. Vivian Treichel Giesel, Mateus Reche, Lolita Schneider, Lucas Araújo, Helena von eye Corleta, Edison Capp. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, UFGRS.

The effects of carbohydrate ingestion during exercise have been of great interest. The goal of this investigation was to analyze the association between glucose infusion during the practice of an intermittent physical exercise and the alterations in glycogen, lactate and glicemia of rats. 40 male rats with 60 days were divided in groups: TEC (trained exercised with carbohydrate), TES (trained exercised without carbohydrate), TNC (trained non-exercised with carbohydrate), TNS (trained non-exercised without carbohydrate), SEC (untrained exercised with carbohydrate), SES (untrained exercised without carbohydrate), SNC (untrained non-exercised with carbohydrate), SNS (untrained non-exercised without carbohydrate). The protocol consisted in 1 minute running above lactate threshold and 30 seconds running below it, 30 minutes, in a treadmill. Blood, liver and muscle was taken to measure glicemia, lactate and glycogen. Lactate in trained groups showed significant higher levels in T2 than T1 but remains within lactate threshold. In untrained ones it overcomes threshold. Glycogen showed higher concentrations in trained and, despite trained or not, in supplemented groups. Intermittent physical exercise is great in preventing trained lactate pool and in association with glucose supplementation it will be efficient to maintain sufficient glicemia levels either. Training is efficient in storing more glycogen and exogenous glucose during that can be a good form of sparing endogenous sources.

POS 16-53

O exercício físico iniciado logo após o desmame protege os animais obesos-MSG do diabetes. Fernanda C. P. Mesquita, Ana Eliza Andreazzi, Dionísia Xavier Scomparin, Sabrina Grassiolli, Paulo Cezar de Freitas Mathias, Laboratório de Biologia Celular e da Secreção, Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá, Brasil.

A obesidade é um dos principais problemas de saúde pública mundial,causando várias doenças crônico degenerativas como a hipertensão arterial e o diabetes.Em vários modelos experimentais de obesidade um dos métodos utilizados para se avaliar o risco de adquirir o diabetes é o tratamento com doses diabetogênicas de estreptozotocina (STZ) que age nas células beta pancreáticas causando alterações nas concentrações de insulina sanguínea e de glicemia.Um dos principais métodos para se atenuar o desenvolvimento da obesidade e do diabetes é a prática regular de exercícios físicos.Camundongos machos receberam injeções intradérmicas de glutamato monossódico (MSG) 4mg/g de peso corporal. Animais controle receberam salina isosmótica. Aos 21 dias ocorreu o desmame e os grupos foram separados em 4 grupos: Controle-sedentário (SED); Controle-exercitado (EXE); MSG-sedentário (MSG-SED) e MSG-exercitado (MSG-EXE). A natação foi realizada 3vezes por semana durante 15 minutos. Aos 86 dias, os animais foram novamente divididos em grupos que receberam injeções intraperitoniais de STZ (100g/kg de peso corporal) e grupos controles que receberam solução tampão PBS. Os animais diabéticos que realizaram o exercício físico tiveram uma melhora de 20.3% nos índices glicêmicos enquantos os animais MSG diabéticos a melhora foi de 34% ($p<0.05$). O exercício físico foi eficiente em diminuir os índices glicêmicos de animais MSG($p<0.05$), Assim como uma melhora na insulinemia desses animais. A atividade física provocou um aumento nos estoques de catecolaminas nas glândulas adrenais dos camundongos, todavia foi mais evidente nos animais MSG. Diante dos resultados podemos concluir que o exercício físico iniciado logo após o desmame foi eficiente em reduzir os níveis plasmáticos de glicemia, assim como melhorar a hiperinsulinemia e proteger o animal contra o diabetes.

POS 16-54

Sazonalidade da ligação à insulina e atividade tirosina quinase do receptor insulínico em brânquias posteriores de Chasmagnathus granulatus (Dana 1851). [2]Márcia Trapp, [1]Sandra C.Valle, [1]Gabriel Machado, [1]Danielle Kaiser, [1]Luiz C. Kucharski, [1]Roselis S.M. Da Silva. [1]Depto. Fisiologia ICBS-UFRGS. POA, Brasil,[2] Centro Universitário Lasalle, Canoas, Brasil.

Em seu habitat o caranguejo de estuario *Chasmagnathus granulatus* é exposto a variações sazonais de: salinidade, temperatura ambiente, teor de O_2 dissolvido na água, composição da dieta e fotoperíodo. O objetivo deste trabalho foi de estudar o efeito da variação sazonal dos parâmetros ambientais sobre as características do receptor de insulina em brânquias posteriores de *C.granulatus*. A cada mês, durante um ano, a hemolinfa e as brânquias posteriores foram coletadas, sob crioanestesia, de 30 caranguejos machos e congeladas até a preparação das membranas plasmáticas (MPs). Os métodos de determinação da ligação da insulina ao CGILR (*Chasmagnathus granulatus* Insulin Like Receptor) e de avaliação da atividade tirosina quinase foram adaptados de Kucharski (1997) e Trapp (2005). Verificou-

se que a porcentagem máxima de deslocamento da ^{125}I-Insulina pelo hormônio não marcado foi de: 53, 27, 20 e 6 % no outono, na primavera, no inverno e no verão, respectivamente. A atividade basal da tirosina quinase foi maior ($p<0,05$) no outono e no inverno quando comparada àquela verificada nas outras duas estações. Porém, a insulina bovina estimulou significativamente ($p<0,05$) a fosforilação do substrato sintético (Poly:glu; atividade tirosina quinase) somente no verão e primavera. A osmolalidade da água do habitat do *C. granulatus* foi significativamente elevada no verão quando comparada às demais estações. Os resultados de nosso trabalho indicam que a variação sazonal dos parâmetros ambientais modifica as características de ligação da insulina ao receptor e a transdução do sinal insulínico em brânquias posteriores de *C. granulatus*. APOIO: CNPq, CAPES.

POS 18-32

A melatonina parece oferecer proteção ao fígado de ratos cirróticos inalados por tetracloreto de carbono. [1,2]Marroni, Norma; [2]Schwengber, Alex; [1]Ferreira, Clarissa; [1]Bona, Silvia; [2]Simonetto, Douglas. [1]Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes - ULBRA; [2]Laboratório de Fisiologia e Hepatologia Experimental - HCPA.

O Tetracloreto de Carbono provoca um desbalanço nos sistemas de defesa antioxidante levando a cirrose. A Melatonina (MEL), atua como "scavenger" de radicais livres e regenera enzimas antioxidantes endógenas. Avaliamos a ação protetora da MEL sobre o estresse oxidativo em ratos cirróticos, avaliando a lipoperoxidação (LPO) e a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), bem como provas de função hepática e a análise histológica (Picrosírius). Foram utilizados 15 ratos Wistar machos, com ±250g, divididos em três grupos: I-Controle, II-Cirrótico, III-Cirrótico + MEL. Os ratos foram submetidos a inalações de CCl4 (2x/sem), durante 16 semanas, receberam fenobarbital na água de beber na dose de 0,3g/dl, como indutor enzimático. A MEL(20mg/Kg) foi iniciada na 10ª semana de inalação. A análise estatística foi ANOVA - Student Newman Keuls (Média ± EP), significativo $p< 0,05$. A análise bioquímica (AST, ALT, BT, BD, Albumina, FA) mostrou um aumento significativo de lesão tecidual no grupo II em relação ao I e III. A LPO avaliada através de TBARS no sangue (I)2,48±0,26; (II)4,68±0,18; (III)3,46±0,11 (nmoles/mg Hb) e no fígado (I)0,32±0,02; (II)0,64±0,0,03; (III)0,42±0,03 (nmoles/mg prot.) demonstrou maior dano de membranas celulares no grupo II em relação ao I e III. Avaliando a atividade das enzimas antioxidantes SOD (I)14,72±0,64; (II)9,32±0,32; (III)13,85±0,46 (U-Sod/mg Prot) e CAT (I)1,26±0,07; (II)0,45±0,06 e (III)0,94±0,09 (pmoles/mg Prot), observou-se uma diminuição significativa da atividade no grupo II em relação aos demais. Na análise histológica, os animais do grupo III mostraram menores graus de fibrose hepática e necrose hepatocelular quando comparados ao grupo II. Com a administração da MEL observa-se que ocorre uma diminuição da lipoperoxidação medida no sangue e no fígado, e aumento na atividade das enzimas antioxidante. A MEL parece oferecer proteção ao fígado de ratos cirróticos.

Notas/*Notes*