

- Neuromorfologia

02.001

CONEXÕES EFERENTES DO NÚCLEO CAUDAL LINEAR DA RAFE NO RATO. Hasue, R. H.; Del-Fava, F.<sup>\*\*</sup>; Shammah-Lagnado, S. J. Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

**Objetivo:**

O núcleo caudal linear da rafe (CLi) contém neurônios dopaminérgicos do grupo A10 e neurônios serotoninérgicos do grupo B8 e, em função destas características, tem sido considerado parte da área tegmental ventral (VTA) ou, alternativamente, da rafe mesencefálica. Visando esclarecer a sua afiliação, bem como a existência de uma especificidade anátomo-funcional da VTA, verificada em estudo prévio de nosso laboratório (J Comp Neurol 454:15, 2002), analisamos as conexões eferentes do CLi.

**Métodos e Resultados:**

Foi usada a técnica de rastreamento anterógrado da leucoaglutinina do *Phaseolus vulgaris* em ratos Wistar (180-220g). Nossos resultados indicam que, além de inervar profusamente os demais núcleos da VTA, axônios do CLi ascendem pelo fascículo prosencefálico medial e terminam densamente no hipotálamo lateral, na parte intermédia do núcleo septal lateral, no núcleo septo-hipocampal, no tubérculo olfatório medial, e na concha medial do accumbens, onde evitam os agregados celulares. Este sistema fornece ainda projeções de densidade moderada para os córtices infra-límbico, pré-límbico, piriforme e entorrinal lateral, bem como para o núcleo amigdalóide basolateral posterior, para a amígdala expandida central, para a área de transição amígdalo-piriforme e para o núcleo reuniens. Um contingente de fibras do CLi também trafega pelo sistema periventricular e se distribui para o núcleo dorsal da rafe, para a substância cinzenta central e para os núcleos médio-dorsal e da linha média do tálamo. Caudalmente, o CLi se projeta para o núcleo tegmental pedúnculo pontino, para a área parabraqial e para a região peri-locus coeruleus.

**Conclusões:**

O CLi inerva um subconjunto dos alvos da VTA, e faz parte de uma circuitaria neural envolvida em processos afetivos e motivacionais, estando em particular implicado em respostas a reforços naturais, tais como aspectos hedônicos do comportamento alimentar e em mecanismo de adição a drogas psicoativas.

02.002

ESTUDO SOBRE A ARBORIZAÇÃO DENDRÍTICA DE NEURÔNIOS DA AMÍGDALA MEDIAL ÂNTERO-DORSAL, PÓSTERO-DORSAL E PÓSTERO-VENTRAL DE RATOS. <sup>1</sup>Dall'Oglio, A.; <sup>2</sup>Gehlen, G.; <sup>3</sup>Achaval, M.; <sup>4</sup>Rasia-Filho, A. A. <sup>1</sup>Neurociências UFRGS; <sup>2</sup>Instituto de Ciências da Saúde – FEEVALE; <sup>3</sup>Ciências Morfológicas UFRGS; <sup>4</sup>Fisiologia FFFCMPA

**Objetivo:**

Estudar o padrão de arborização dendrítica de neurônios da amígdala medial ântero-dorsal (MeAD), póstero-dorsal (MePD) e póstero-ventral (MePV) de ratos machos e fêmeas em diestro.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar adultos tiveram seus encéfalos submetidos à técnica de Golgi. Os encéfalos foram seccionados em vibrátomo (100 e 200  $\mu$  m), colocados em bicromato de potássio e, a seguir, em nitrato de prata. Os neurônios que estavam nos limites da MeAD (N<sub>f</sub>= 21 e N<sub>m</sub>= 14), MePD (N<sub>f</sub>= 19 e N<sub>m</sub>= 17) e MePV (N<sub>f</sub>= 15 e N<sub>m</sub>= 16) e que possuíam dendritos bem impregnados e afinando-se foram desenhados em câmara clara acoplada a microscópio óptico (400x). O nível de arborização dendrítica, com seu número de ramos, foi definido pelo padrão de surgimento a partir do soma (até o nível quaternário). Este e o comprimento dendrítico foram comparados entre os sexos e por subregião pela análise da variância multivariada (MANOVA). A distribuição preferencial dos ramos dendríticos foi estudada pela técnica da sobreposição de quadrados (com 20  $\mu$  m de lado) e submetida ao teste do  $\chi^2$  (tabela de 2 x 8). A técnica de sobreposição de círculos concêntricos (com 10  $\mu$  m de raio) foi utilizada para estudar a orientação espacial dos dendritos (em coordenadas medial, lateral, dorsal e ventral) e submetida à análise da variância (ANOVA) para medidas repetidas com critério de Roy para teste de interação entre as variáveis. Em todos os casos,  $\alpha$  = 5%. Das análises feitas, diferença estatisticamente significativa entre os sexos foi

encontrada nas três subregiões quanto à orientação espacial, sendo que dendritos de machos tiveram ramos mais próximos do plano médio-lateral e de fêmeas, do dorso-ventral ( $p < 0,05$ ).

**Conclusões:**

Os dados sugerem que há dimorfismo sexual na MeAD, MePD e MePV o qual ocorre, preferentemente, no padrão de orientação espacial dos dendritos. E isto, pela relação com a hodologia local, pode se relacionar com a atividade celular dessas regiões.

02.003

O COMPLEXO AMIGDALAR DO GAMBÁ: ARQUITETURA E AFERÊNCIAS. <sup>1</sup>Rocha, V. R.; <sup>1</sup>Anomal, R. F.\*\*; <sup>1</sup>Franca, J. G.; <sup>2</sup>Canteras, N. S. <sup>1</sup>Neurobiologia IBCCF-UFRJ; <sup>2</sup>Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

**Objetivo:**

No gambá (*Didelphis aurita*), um animal primitivo, o estudo da citoarquitetura e conexões da amígdala poderá indicar o quanto esta estrutura, envolvida no processamento das emoções, se mantém de forma estável filogeneticamente.

**Métodos e Resultados:**

Animais sob anestesia receberam injeções estereotáxicas de traçadores retrógrados na amígdala. Após sobrevivida de 14 dias estes foram perfundidos e os cérebros fixados. Cortes coronais do encéfalo foram processados alternadamente para NADPH-diaforase e Nissl. A análise citoarquitetônica permitiu a delimitação das seguintes regiões: área amigdal anterior (AAA), núcleo lateral (LA), núcleo medial (MEA), núcleo central (CEA), núcleo basomedial anterior (BMAa), núcleo basomedial posterior (BMAp), núcleo basolateral anterior (BLAa), núcleo basolateral posterior (BLAp), núcleo posterior da amígdala (PA), o núcleo cortical anterior (COAa), núcleo cortical posterior (COAp), área amígdalo-piriforme (PAA), e núcleo intercalado (IA). A análise da atividade diaforásica revelou que os núcleos LA, CEA e MEA apresentaram os três tipos de marcação histoquímica: neurópila, neurônio do tipo I e do tipo II. COAp, PA, IA apresentaram apenas marcação de neurópila. BLAa, COAa, AAA não apresentam marcação diaforásica. A análise das projeções revelou que os núcleos COAa e BMAp recebem aferência do subículo, córtex piriforme e de núcleos talâmicos tais como: supragenículo (SG), lateral posterior (LP) e genículo medial (GM). O núcleo LA recebe projeções dos córtices frontal, parietal periestriado, piriforme, perirrinal, insular, temporal; dos núcleos talâmicos, SG, LP, GM; e do núcleo hipotalâmico paraventricular posterior.

**Conclusões:**

Sugerimos que a organização da amígdala se manteve preservada durante o processo evolutivo dos mamíferos, já que, no gambá, observamos que a citoarquitetura, atividade diaforásica e aferências são similares a de outras espécies de mamíferos.

02.004

ESTUDO DAS CONEXÕES EFERENTES DO NÚCLEO ROSTRAL LINEAR DA RAFE NO RATO. Del-Fava, F.; Hasue, R. H.\*\*; Shammah-Lagnado, S. J. Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

**Objetivo:**

A área tegmental ventral (VTA) contém neurônios dopaminérgicos do grupo A10, que participam de processos motores, cognitivos e emocionais. Em um estudo de rastreamento retrógrado (J Comp Neurol 454:15, 2002), observamos que o núcleo rostral linear da rafe (RLi), diferentemente dos outros núcleos da VTA, inerva escassamente o núcleo accumbens. Esta e outras peculiaridades instigou-nos a mapear de forma sistemática as projeções do RLi com o intuito de compará-las com o padrão de projeções dos outros componentes da VTA.

**Métodos e Resultados:**

Foi usada a técnica de rastreamento anterógrado da leucoaglutinina do *Phaseolus vulgaris* em ratas Wistar adultas (180-220 g).

Os axônios do RLi ascendem pelo fascículo prosencefálico medial. Parte deste contingente se incorpora à estria medular inervando profusamente a divisão lateral da habênula lateral e a divisão central do núcleo médio-dorsal do tálamo. Mas, a maior parte continua rostralmente, originando campos terminais densos no setor anterior do hipotálamo lateral, no tubérculo olfatório (principalmente na camada III, que contém elementos palidais, mas também nas camadas I e II), no pálido ventral e no núcleo pré-óptico magnocelular. Fibras do RLi fornecem ainda, via ansa

peduncular, projeções modestas para a amígdala **expandida central e o núcleo amigdalóide** basolateral, e, via fascículo prosencefálico medial, projeções para o núcleo septo-hipocampal, e o córtices pré-frontal (orbital medial, orbital ventro-lateral, infra-límbico, pré-límbico, cíngulo anterior dorsal e agranular insular) e entorrinal. No tronco cerebral, fibras do RLi terminam moderadamente na região supraoculomotora e, em menor grau, na substância negra compacta, nos núcleos retrorubral e dorsal da rafe e na região paramediana do núcleo mediano da rafe.

**Conclusões:**

Estes resultados sugerem que o RLi atua precipuamente sobre os elos estriatais, palidais e talâmicos do "circuito insular agranular ventral", alça córtico-estriado-pálido-tálamo-cortical relacionada com o processamento de informações olfativas.

02.005

EFEITOS DA GALANTAMINA SOBRE OS NEURÔNIOS DE ÁREAS RELACIONADAS À APRENDIZAGEM E MEMÓRIA OPERACIONAL EM RATOS ADULTOS E IDOSOS. <sup>1</sup>Santos, E. \*; <sup>2</sup>Dolsan, E. F. S. L. \*; <sup>3</sup>Silva, N. F. ; <sup>1</sup>Penna, A. M. <sup>1</sup>Morfologia UFES; <sup>2</sup>Morfologia FAESA; <sup>3</sup>Fisiologia FAESA

**Objetivo:** Verificar alterações de volume nuclear (Vnuc) em neurônios da área CA<sub>1</sub> do hipocampo, córtex pré-frontal medial (CPFm) e córtex entorrinal (CEntL) de ratos adultos e idosos submetidos ao tratamento crônico com galantamina.

**Métodos e Resultados:**

Ratos *Wistar*, machos, adultos (3-6 meses) e idosos (20-22 meses) foram alocados em 4 grupos (n=5): SAL1 (ratos adultos, salina 0,9%), SAL2 (ratos idosos, salina 0,9%), GAL1 (ratos adultos, galantamina, 2 mg/kg) e GAL2 (ratos idosos, galantamina, 2 mg/kg), com doses diárias, *i.p.*, por 30 dias. Após este período os animais foram sacrificados e os cérebros processados histologicamente. Cortes seriados de 10  $\mu$ m de espessura foram observados sob microscopia e o volume nuclear obtido pela fórmula ( $V = 4/3 \cdot \pi \cdot R_1 \cdot R_2^2$ ) onde  $R_1 > R_2$  (Pharmacol., 26(3): 803-7). Para análise estatística foi utilizada ANOVA de 1 via seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey, sendo os resultados expressos em média  $\pm$  erro padrão, com  $p < 0,05$ . Os ratos idosos apresentaram menor Vnuc nos neurônios da área CA<sub>1</sub> do hipocampo que os ratos adultos (SAL1:  $296,2 \pm 6,66 \mu\text{m}^3$ ; SAL2:  $248,94 \pm 7,80 \mu\text{m}^3$ ). Após a aplicação de galantamina houve significativa redução de Vnuc nos ratos idosos nesta área (GAL2:  $205,76 \pm 3,95 \mu\text{m}^3$ ). No CPFm, apesar de não haver alteração de Vnuc entre os ratos adultos e idosos, ocorreu aumento significativo de Vnuc após o tratamento com galantamina, tanto em ratos adultos quanto em ratos idoso (SAL1:  $166,99 \pm 7,55 \mu\text{m}^3$ ; GAL1:  $327,80 \pm 8,59 \mu\text{m}^3$ ; SAL2:  $176,40 \pm 6,59 \mu\text{m}^3$ ; GAL2:  $214,69 \pm 4,12 \mu\text{m}^3$ ). No CEntL houve aumento significativo de Vnuc após o tratamento com galantamina somente em ratos adultos (SAL1:  $237,55 \pm 7,60 \mu\text{m}^3$ ; GAL1:  $237,55 \pm 7,60 \mu\text{m}^3$ ).

**Conclusões:**

Ocorreu ação diferenciada da galantamina sobre o volume nuclear de neurônios em áreas, do sistema nervoso central, envolvidas nos processos de aprendizagem e memória operacional em ratos adultos e idosos.

02.006

EXISTE PERDA DE MASSA ENCEFÁLICA E CEREBRAL NO ENVELHECIMENTO? UM ESTUDO EM AUTÓPSIAS. <sup>1</sup>Grinberg L. T.; <sup>2</sup>Ferretti R. \*\*; <sup>2</sup>Farfel, J. M. \*\*; <sup>2</sup>Leite, R. E. P. \*\*; <sup>2</sup>Rosemberg S.; <sup>3</sup>Nitrini, R.; <sup>2</sup>Saldiva, P. H. N.; <sup>2</sup>Jacob Filho, W. <sup>1</sup>FM-USP; <sup>2</sup>Patologia FM-USP; <sup>3</sup>Neurologia HC-FMUSP

**Objetivo:**

Uma das perguntas ainda não esclarecida na senescência se refere à variação da massa encefálica ao longo dos anos e o peso do gênero sobre essa alteração. O objetivo deste estudo é descrever a variação da massa encefálica e cerebral humana durante o envelhecimento e sua relação com o sexo.

**Métodos e Resultados:**

Métodos: Foram selecionados os primeiros 160 casos sem comprometimento cognitivo (CDR=0) do PEC/FMUSP. Os cérebros são provenientes do Banco de Cérebros da FMUSP. Os sujeitos foram divididos por gênero (F= 62 e M=98) e grupo etário conforme a OMS - pré-senil (F=11 e

M=41), idoso (F=41 e M=41), e muito idoso (F=10 e M=17). A massa encefálica e cerebral foi medida em gramas, utilizando-se balança digital calibrada. Os dados foram cruzados entre todos os grupos, a fim de relacionar a massa à variável etária e de gênero. Os parâmetros morfométricos foram analisados por comparação de médias com o software SPSS v13.0.

**Resultados:**

Tanto a massa cerebral como a encefálica são menores nas mulheres idosas, ( $p < 0,001$ ). Não houve diferenças no grupo muito idoso e pré-senil. Na amostra analisada, as mulheres tiveram perda de massa mais acentuada no início da fase idosa ( $p < 0,01$ ) e os homens no final desta faixa ( $p < 0,01$ ). Em ambos os sexos a atrofia foi estatisticamente significativa entre as faixas etárias.

**Conclusões:**

No sexo feminino a perda de massa é mais precoce que no masculino. Os dados anatomofuncionais apresentados corroboram os resultados da literatura obtidos com amostras menores ou métodos de imagem. A diferença de peso entre os sexos não significa diferenças funcionais. Ainda faltam estudos sobre as bases neurofisiológicas da atrofia encefálica e sua correlação com as funções cerebrais durante o envelhecimento

02.007

EFEITOS DA ATIVIDADE FÍSICA ESPONTÂNEA NA ARBORIZAÇÃO DENDRÍTICA DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO ESTRIATAL ISQUÊMICA PELA ENDOTELINA-1. Oliveira, T. P.; Chadi, G.; Anatomia ICB III-USP

**Objetivo:**

Analisar a influência da atividade física espontânea na roda de corrida no desaparecimento de dendritos em ratos submetidos à lesão estriatal isquêmica pela endotelina-1 (ET-1).

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar machos tiveram acesso à roda de corrida por 7 períodos de 12 horas por dia antes da lesão. Animais controles sedentários permaneceram em caixas individuais desprovidas de roda, nas mesmas situações. Após, os animais treinados e controles sedentários foram submetidos à lesão estereotáxica isquêmica por ET-1 no corpo estriado. Parte do grupo de animais controles sedentários foi submetido à lesão estereotáxica solvente. Após a lesão, os animais treinados foram divididos em dois grupos: treinado interrompido (permaneceram em caixas individuais desprovidas de roda) e treinado mantido (manutenção do protocolo de atividade física). Após 14 ou 30 dias da lesão, os animais foram sacrificados através de perfusão transcárdica e seus cérebros processados para imunorreatividade da MAP-2 (proteína associada ao microtúbulo-2, marcador de dendritos). A área de imunorreatividade da MAP-2 em torno da lesão foi quantificada através de análise morfométrica (KS400, Zeiss).

**Resultados:** Após 14 dias de lesão por ET-1, ocorreu diminuição da área de imunorreatividade da MAP-2 no estriado lesado em relação ao estriado contralateral à lesão apenas no grupo sedentário (52%,  $p < 0,001$ ). No período de 30 dias, esta diminuição foi observada nos grupos sedentário (52%,  $p < 0,01$ ), treinado interrompido (63%,  $p < 0,05$ ) e treinado mantido (34%,  $p < 0,05$ ). A análise intergrupos, no período de 14 dias, mostrou menor área de imunorreatividade da MAP-2 no estriado lesado do grupo sedentário em relação aos grupos treinado interrompido (48%,  $p < 0,05$ ) e treinado mantido (62%,  $p < 0,05$ ). A mesma análise em 30 dias mostrou maior área de imunorreatividade da MAP-2 no grupo treinado mantido tanto ipsilateral ( $p < 0,01$ ) quanto contralateral à lesão ( $p < 0,05$ ) em relação aos demais grupos.

**Conclusões:**

A lesão estriatal isquêmica pela ET-1 promove o desaparecimento de dendritos em torno da lesão. A realização da atividade física espontânea antes e após lesão promove menor índice de desaparecimento de dendritos em torno da lesão e aumento da arborização dendrítica contralateral. Deste modo, a atividade física espontânea é um importante indutor da plasticidade no SNC, particularmente diante de uma lesão.

02.008

ANÁLISE TOPOGRÁFICA DAS CÉLULAS GANGLIONARES EM RETINA DE *NASUA NASUA* (QUATI). Vieira-da-Silva, T. G.; Malheiros, E. S.; Silveira, L. C. L.; Lima, S. M. A. Fisiologia CCB-UFPA

**Objetivo:**

A espécie *Nasua nasua* (quati) é um carnívoro comum nas Américas e pouquíssimo estudada tanto nos aspectos comportamentais como fisiológicos. Nesse trabalho analisamos a topografia da densidade de células ganglionares encontradas na retina do quati.

**Métodos e Resultados:**

Quatro retinas de animais machos, adultos, foram fixadas com formalina 10%, dissecadas, aplanadas e coradas pelo método de Nissl. As células ganglionares foram distinguidas das demais células da camada ganglionar usando critérios previamente estabelecidos e foram contadas usando-se o método da amostragem aleatória sistemática (Visual Neuroscience, 2(3): 221, 1989). A área da retina média foi de 197 mm<sup>2</sup> (DP= 6,04 mm<sup>2</sup>, n = 4). O pico de densidade média de células ganglionares foi de 6425 células/mm<sup>2</sup> (DP = 320,15 células/mm<sup>2</sup>, n = 4) e ocorreu a, aproximadamente, 2 mm temporal ao nervo óptico, formando uma especialização retiniana do tipo *area centralis*. A partir daí a densidade decresce gradualmente em direção à periferia da retina para valores inferiores a 600 células/mm<sup>2</sup>.

**Conclusões:**

A *area centralis* encontrada nesse animal pode estar relacionada ao seu comportamento arbóreo e ser utilizada para a discriminação de espaço e profundidade.

02.009

ANÁLISE MORFOQUANTITATIVA DO PLEXO MIOENTÉRICO DO ÍLEO DE CAMUNDONGAS OBESAS (OB/OB). <sup>1</sup>Mizuno M. S.; <sup>2</sup>Liberti, E. A.; <sup>2</sup>Elias, C. F.; <sup>2</sup>Castelucci, P. <sup>1</sup>Centro de Ciências da Saúde UMC; <sup>2</sup>Anatomia ICB III-USP

**Objetivo:**

As funções intestinais como a motilidade, secreção e absorção são coordenadas pelo sistema nervoso entérico e, disfunções na motilidade intestinal são observadas em indivíduos obesos. Devido a pouca informação na literatura sobre os efeitos da obesidade nos neurônios entéricos este trabalho visou analisar morfoquantitativamente o plexo mioentérico do íleo de camundongas *ob/ob*, deficientes em leptina.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados 05 camundongas obesas (C57BL/6J *ob/ob*) e 05 camundongas controle (+/+). Os segmentos de íleo foram retirados e obtida a sua área. Os tecidos foram submetidos ao método de marcação da NADH-diaforase para evidenciar os neurônios mioentéricos que foram contados e obtidos as suas áreas através do programa de análise computadorizada KS-300. A análise qualitativa demonstrou neurônios arredondados ou ovalados distribuídos em gânglios uniformes em ambos os grupos. Foram observados neurônios com intensidades diferentes para a reação de NADH-diaforase. A análise quantitativa demonstrou que houve diferença estatística no peso dos animais obesos (65,52g) e dos animais controle (25,62g). A área do íleo demonstrou um aumento de 27,6% no grupo obeso. A densidade neuronal demonstrou diferença estatística, o grupo obeso apresentou 2850 neurônios/cm<sup>2</sup> e o grupo controle 3571 neurônios/cm<sup>2</sup>. A área do corpo celular dos neurônios mioentéricos no grupo controle variaram de 70,79µm<sup>2</sup> a 679,93µm<sup>2</sup> e no grupo obeso foram de 83,41µm<sup>2</sup> a 831,91µm<sup>2</sup>, demonstrando não haver diferenças significativas quanto ao tamanho. Com relação a intensidade de marcação, não houve diferença estatística significativa entre os dois grupos, porém foi observado alteração dentro do mesmo grupo.

**Conclusões:**

Pode-se inferir que nas camundongas obesas (*ob/ob*) houve um aumento na área do íleo e diminuição na densidade de neurônios por cm<sup>2</sup>. Esta alteração pode promover alterações nas funções intestinais.

02.010

AÇÃO NEUROPROTETORA DO CNTF CONJUGADO COM DOMÍNIO DE TRANSLOCAÇÃO DE PROTEÍNA (PTD) NÃO TEM EFEITOS COLATERAIS. <sup>1</sup>Rezende, A. C. S. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup>Peroni, <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup>Rogério, F. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup>Skaper, S. ; <sup>3</sup>Langone, F. <sup>1</sup>Biologia Celular IB-UNICAMP; <sup>2</sup>Bioquímica, Università di Padova Itália; <sup>3</sup>Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP

**Objetivo:**

O fator neurotrófico ciliar (CNTF) protege motoneurônios, porém seus efeitos colaterais de perda de peso e caquexia, impedem seu uso clínico. Neste estudo investigamos o efeito do CNTF conjugado com um PTD derivado do vírus HIV-1 (Tat-CNTF) administrado a ratos neonatos após secção do nervo ciático.

#### **Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar (P2) tiveram o nervo ciático esquerdo seccionado e receberam tratamento local (lo) ou subcutâneo (sc) com CNTF (lo:6µg; sc:1,2µg/g/dia), Tat-CNTF (lo:6µg ou 3µg; sc:1,2, 0,6 ou 0,3µg/g/dia) ou PBS. O peso corporal foi registrado diariamente entre P2 e P7. Em P7 os animais foram perfundidos (paraformaldeído 4%), sendo a medula lombar embebida em parafina e a gordura marrom interescapular (GMI) em historesina. Em cortes semi-seriais transversais da medula foram contados os motoneurônios do grupamento ventrolateral de ambos lados. A razão entre o número de motoneurônios do lado lesado e do lado íntegro correspondeu ao índice de sobrevivência neuronal (ISN). Cortes semifinos da GMI foram corados com azul de toluidina para avaliação do conteúdo lipídico. Nossos resultados mostraram que a administração de Tat-CNTF em ratos neonatos foi capaz de promover a sobrevivência de aproximadamente 70% dos motoneurônios axotomizados. Além disso, esse efeito neuroprotetor da Tat-CNTF foi similar ao do CNTF e não produziu retardo no crescimento corporal e intensa mobilização de lipídios na GMI.

#### **Conclusões:**

Estes dados mostraram que a Tat-CNTF possui ação neuroprotetora e não produz os efeitos colaterais indesejáveis do CNTF, suportando a hipótese que a adição do domínio PTD a moléculas neurotróficas pode ser uma estratégia eficaz no tratamento de doenças neurodegenerativas, tais como a esclerose lateral amiotrófica.

02.011

ANÁLISE DAS PROTEÍNAS DO LÍQUOR E DE UBIQUITINA EM ASTRÓCITOS DA MEDULA ESPINHAL DE PORTADORES DE ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA. <sup>1</sup>Mendonça, M. F de.; <sup>2</sup>Martins, S. C. S.; <sup>3</sup>Higashi, R.; <sup>2</sup>Moura, V.; <sup>4</sup>Chimelli, L.; <sup>1</sup>Martinez, A. M. B. <sup>1</sup>Histologia e Embriologia UFRJ; <sup>2</sup>Anatomia UFRJ; <sup>3</sup>HU-UFRJ; <sup>4</sup>Anatomia Patológica UFRJ

#### **Objetivo:**

Esclerose Lateral Amiotrófica (ALS) é uma doença neurodegenerativa, de etiologia desconhecida., que afeta os neurônios motores somáticos, levando a atrofia dos músculos esqueléticos, paralisia e morte. Em trabalho anterior, mostramos a expressão do proteasoma em neurônios e astrócitos do corno anterior da medula espinhal (ME) de casos de ELA. Encontramos acúmulos no pericário de neurônios e colocalização de astrócitos GFAP positivos. Observamos também expressão de ubiquitina em neurônios das mesmas amostras. Neste trabalho, apresentaremos dois outros pontos de caracterização da ELA. O primeiro, é a possível expressão de ubiquitina em astrócitos da ME, cujo domínio na literatura é muito tímido. Estamos sendo pioneiros nesta demonstração. Um segundo ponto é a caracterização de diferentes estágios de progressão da doença, através da análise das proteínas no líquido; podendo esta ser útil inclusive no diagnóstico da doença.

#### **Métodos e Resultados:**

Fragmentos de ME de casos de ELA e controles foram processados para imunohistoquímica (anti-ubiquitina). Além disso, obtivemos amostras de líquido de casos de ELA (5) e controles (2). Estas foram tratadas para eletroforese em gel de poliacrilamida, na presença de SDS e submetidas à eletroforese em gel a 8% de acrilamida. O material foi revelado pela coloração a prata.

A expressão de ubiquitina nos astrócitos é elevada, comparada à que descrevemos para neurônios. Embora nem todos os astrócitos sejam marcados, é possível evidenciar forte expressão em sua maioria, distribuída no citoplasma e no núcleo. Essa expressão ocorreu nos 3 casos de ELA estudados. Não sabemos de fato se existe uma distribuição mais freqüente em um caso ou outro, mas a quantificação é possível. Quanto ao líquido, embora em estágios diferentes da progressão da doença, sua análise não parece revelar diferenças na expressão das proteínas. Uma proteína com aproximadamente 70 kDa parece ser mais concentrada em 3 dos 4 casos analisados. Além disso, dois desses casos exibem proteínas com cerca de 200 kDa.

#### **Conclusões:**

A expectativa é poder correlacionar eventuais variações protéicas no líquido com o grau de progressão da doença, além de fazer essa correlação entre os portadores de ELA e casos normais.

02.012

ATRASO NA REMIELINIZAÇÃO PONTINA E MESENCEFÁLICA APÓS INJEÇÃO DE DROGA GLIOTÓXICA EM RATOS SUBMETIDOS AO MODELO DIABETOGÊNICO DA ESTREPTOZOTOCINA. Trigueiro, A.H.<sup>\*\*</sup>; Bondan, E. F.; Lallo, M. A. Neurociências UNIBAN

**Objetivo:**

A desmielinização segmentar no sistema nervoso periférico por prejuízo das células de Schwann é um achado patológico comum em pacientes diabéticos. No modelo desmielinizante do brometo de etídio (BE), tais células mostram-se capazes de invadir o sistema nervoso central (SNC) e contribuir para o reparo mielínico. Como a remielinização por célula de Schwann no SNC é um evento bem conhecido neste modelo gliotóxico, o presente estudo visou observar o comportamento destas células e dos oligodendrócitos sobreviventes após injeção local de BE no tronco encefálico (ponte e mesencéfalo) de ratos tornados diabéticos pela estreptozotocina.

**Métodos e Resultados:**

Quarenta ratos Wistar foram usados, dos quais 25 receberam uma dose intravenosa de estreptozotocina (50 mg/kg), injetando-se 10 dias após 10 microlitros de BE a 0,1% (n=15) ou salina a 0,9% (n=10) na cisterna pontina. Dez microlitros de BE foram também injetados em ratos não- diabéticos (n=15). Os animais foram perfundidos por via intracardíaca dos 7 aos 31 dias pós-injeção de BE ou salina e fragmentos da ponte e do mesencéfalo foram coletados e processados para estudos de microscopia de luz e eletrônica de transmissão. Os ratos diabéticos apresentaram atividade macrófágica retardada e menor remielinização em comparação aos não- diabéticos. Embora os oligodendrócitos constituíssem as principais células remielinizantes, as células de Schwann ainda eram capazes de invadir as lesões induzidas pelo BE, aparecendo pela primeira vez aos 11 dias em ratos não-diabéticos e aos 15 dias em ratos diabéticos.

**Conclusões:**

Os resultados indicam que a Diabetes mellitus de curta duração induzida pela estreptozotocina prejudicou tanto a remielinização oligodendroglial quanto aquela desenvolvida por célula de Schwann.

02.013

DEGENERAÇÃO SECUNDÁRIA DE OLIGODENDRÓCITOS E MIELINA NA CÁPSULA INTERNA DE RATOS ADULTOS SUBMETIDOS À LESÃO EXCITOTÓXICA DO ESTRIADO. Guimarães, J. S.<sup>\*\*</sup>; Freire, M. A. M.; Oliveira, J. L. F.<sup>†</sup>; Casale, P. O. A.<sup>‡</sup>; Picanço-Diniz, C. W.; Gomes-Leal, W. Morfologia UFPA

**Objetivo:**

O presente estudo objetivou a descrição da evolução temporal dos padrões de degeneração de oligodendrócitos e mielina em um modelo de lesão aguda do estriado.

**Métodos e Resultados:**

Induziu-se degeneração neuronal aguda em uma região próxima à cápsula interna, através da injeção de 80 nmol (diluídos em 1 µl de solução salina estéril) de N-Metil-D-Aspartato (NMDA) no estriado de ratos Wistar adultos. Nos animais controle, injetou-se o mesmo volume apenas do diluente. Os animais foram anestesiados com uma overdose de xilazina e cetamina, e perfundidos 1, 3, e 7 dias após a injeção de NMDA (n = 3-4 por tempo de sobrevida). Para a análise histopatológica da área de lesão, seções de 10 µm e 50 µm de espessura de animais injetados com NMDA e animais controle de todos os tempos de sobrevida foram coradas pela hematoxilina & eosina e histoquímica para NADPH diaforase, respectivamente. Para marcação de oligodendrócitos patológicos, astrócitos e mielina, utilizou-se os anticorpos anti-TAU-1, anti-GFAP, e anti-proteína básica de mielina (MBP), respectivamente. A degeneração neuronal foi evidenciada por uma intensa área de palor e perda de corpos celulares no sítio de injeção de NMDA. Essa degeneração estendeu-se para a substância branca da cápsula interna, onde oligodendrócitos patológicos foram encontrados principalmente 3 dias após a lesão primária. Houve uma diminuição da imunoreatividade para MBP, principalmente 7 dias após a injeção deste neurotóxico. A ativação de astrócitos foi mais intensa nos tempos de sobrevida mais tardios, como previamente descrito.

**Conclusões:**

Estes resultados sugerem que a ativação de astrócitos, degeneração de oligodendrócitos e alterações da bainha de mielina são importantes componentes histopatológicos durante a

degeneração secundária dos tratos de substância branca da cápsula interna após lesão aguda do estriado.

02.014

EXPRESSÃO DO GANGLIOSÍDEO 9-O-ACETIL GD3 NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL: CONDIÇÕES CONTROLE E RESPOSTA A INJÚRIA. Zaverucha-do-Valle, C.; Gubert, F. M. S. V.<sup>1</sup>; <sup>3</sup>Mendez-Otero, R.; Santiago, M. F.; Biofísica CCS-UFRJ

**Objetivo:**

O gangliosídeo 9-O-acetil GD3 é um glicolípido localizado na membrana celular de neurônios e células gliais. Trabalhos anteriores do laboratório identificaram a expressão desta molécula em regiões de migração celular e extensão axonal no sistema nervoso em desenvolvimento. No sistema nervoso adulto, esta expressão é regulada para baixo em quase todas as regiões, mantendo-se apenas na zona subventricular, ao redor dos ventrículos laterais, em algumas camadas da retina e no cerebelo. Na zona subventricular, conhecido sítio de neurogênese em mamíferos adultos, a presença do gangliosídeo 9-O-acetil GD3 pode ser observada em alguns tipos celulares, incluindo as células tronco neurais. Este estudo pretende, então, caracterizar os tipos celulares que expressam o gangliosídeo 9-O-acetil GD3 no cerebelo e na retina de ratos adultos e analisar qualitativamente a expressão desta molécula em 3 tipos de injúria: um modelo de isquemia global, esmagamento do nervo óptico e lesão cerebelar.

**Métodos e Resultados:**

Em todos os modelos são utilizados ratos adultos com mais de 3 meses. A isquemia global é realizada através de oclusão bilateral das carótidas e os animais são sacrificados 7 dias após a cirurgia. O esmagamento do nervo óptico é feito com pinças mergulhadas em nitrogênio líquido e os animais são sacrificados 4 dias após a injúria. A lesão cerebelar é feita com um bisturi e os animais são sacrificados 7 dias após a cirurgia. A análise da expressão do gangliosídeo 9-O-acetil GD3 é feita através de imunohistoquímica, utilizando-se o anticorpo monoclonal Jones, que reconhece este gangliosídeo. Resultados preliminares demonstraram que o gangliosídeo é expresso preferencialmente na camada plexiforme externa da retina e a expressão parece ser mais generalizada após o esmagamento do nervo óptico. No cerebelo, o gangliosídeo parece estar sendo expresso pelas células de Purkinje e esta expressão parece aumentar após a injúria. Também observamos uma mudança na expressão do gangliosídeo na zona subventricular após isquemia global.

**Conclusões:**

A alteração na expressão do gangliosídeo 9-O-acetil GD3 após modelos de injúria, sugere um possível papel desta molécula em processos regenerativos no sistema nervoso central.

02.015

ROLE OF A2B5-REACTIVE GANGLIOSIDES IN THE MIGRATION OF OLFACTORY ENSHEATHING CELLS (OEC). <sup>1</sup>Cavalcante, L. A.; <sup>2</sup>Campos, F. S. O.; <sup>2</sup>de Carvalho, L. A.; <sup>3</sup>Barradas, P. C.; <sup>3</sup>Santos-Silva, A.; <sup>1</sup>Neurobiologia IBCCF-UFRJ; <sup>2</sup>IBCCF-UFRJ; <sup>3</sup>Farmacologia e Psicobiologia UERJ

**Objetivo:**

OEC have been successfully used for repair in a variety of injury models in the Central Nervous System. It has been demonstrated that axon growth and remyelination occur after OEC transplantation. The migration of OEC into lesioned areas seems to be an important aspect of the regenerative properties of these cells as axonal elongation is coextensive with migrating OEC and the regeneration fails if the cells are unable to move over the injured area. Highly motile cells in CNS such as glioma cells and oligodendrocyte progenitors express certain sialylated glycosphingolipids termed gangliosides such as those recognized by the A2B5 antibody. In this work, we have tested OEC for A2B5-reactive gangliosides and their colocalization with the non-compact myelin protein 2' 3' cyclic nucleotide 3' phosphodiesterase (CNPase). We also verified whether their migration on a laminin substrate is blocked by the addition of this antibody to the culture medium. Since cell movement requires the formation of adhesion structures between the



leading edge of the cell and the substrate, we have also tested for the coexistence of A2B5-reactive gangliosides and the focal adhesion proteins vinculin, talin,  $\beta 1$  integrin and  $\alpha$ -actinin.

**Métodos e Resultados:**

After 3 days in culture cells were fixed and processed for immunohistochemistry or they were incubated with A2B5 antibody for 24h before fixation. We performed the steps of washing, blockage with goat serum and incubation with primary antibodies to adhesion proteins, CNPase and gangliosides. Cells were washed and incubated with secondary antibodies. Coverslips were mounted and analyzed on confocal microscope. We have shown that A2B5 binding colocalizes with CNPase and focal adhesion proteins immunoreactivities, particularly  $\alpha$ -actinin and  $\beta 1$ -integrin and that the A2B5 antibody blocks OEC migration onto a laminin substrate.

**Conclusões:**

Our results suggest that A2B5-reactive gangliosides may interact with specific proteins in membrane microdomains and promote OEC motility.

02.016

COMUNICAÇÃO JUNCIONAL NA MEDULA ESPINHAL DE RATOS ADULTOS: RESPOSTAS À TRANSECÇÃO DO CIÁTICO. <sup>1</sup>Duarte, M. C. ; <sup>1</sup>Santos, J. E. G. dos\* ; <sup>1</sup>Alves, J. A. J.\*\* ; <sup>2</sup>Langone, F. ; <sup>1</sup>Menezes, J. R. L. de; <sup>3</sup>Pereira, C. H.; <sup>1</sup>Fróes, M. M.; <sup>1</sup>Anatomia ICB-CCS-UFRJ; <sup>2</sup>IB-UNICAMP; <sup>3</sup>ICB-UFRJ

**Objetivo:**

Estudos anteriores mostram que lesões da medula espinhal (ME) no rato adulto levam ao reaparecimento de comunicação juncional entre motoneurônios espinhais. No entanto, o acoplamento juncional em outras regiões da ME não foi estudado. Neste trabalho, estudamos a distribuição *in situ* de acoplamento, comparando padrões obtidos na ME de ratos adultos normais com aqueles gerados após transecção do nervo ciático (NC).

**Métodos e Resultados:**

Ratos adultos anestesiados sofrem lesão por transecção unilateral do NC. Após 7 dias, foram sacrificados e submetidos ao método de carregamento por transecção (TL - *transection loading*). No TL, cortes de tecido foram expostos ao permeante juncional de baixa massa molecular, Lucifer yellow (LY), e o impermeante de alta massa, Rodamina dextran (RD). Após fixação com PF 4%, a ME foi crioprotetida e crioseccionada. Segue-se imunorreação para anti-GFAP e anti-Cx43, com resultados positivos para ambos os marcadores. Avaliamos a distribuição de células LY+/RD-, carregadas por acoplamento com parceiras LY+/RD+. O acoplamento estava presente no controle, concentrando-se nos cornos dorsais e epêndima. A ME de ratos com lesão do NC apresentou forte marcação por GFAP, em região marginal à inserção das raízes dorsais do NC, em padrão característico de gliose reativa. O acoplamento juncional pós-lesão, apresentou aumento ipsilateral à lesão, e aparente diminuição contralateral.

**Conclusões:**

Nossos ensaios demonstraram a presença de comunicação juncional na medula espinhal de ratos adultos, sugerindo a importância desta forma de comunicação em tecido nervoso adulto. As alterações aqui relatadas nos níveis de acoplamento juncional após lesão do NC sugerem que as parcerias e a extensão dos sincícios em redes pluricelulares acopladas poderiam incluir-se no repertório de respostas teciduais à lesão do SNC.

02.017

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA APLICAÇÃO INDIRETA DE ONDAS-CURTAS CONTÍNUO DURANTE O PERÍODO GESTACIONAL. <sup>1</sup>Silveira, F.H.S.; <sup>1</sup>Scherer, C. F.; <sup>2</sup>Guedes, R. P.; <sup>3</sup>Rigoti, K. M. <sup>1</sup>Anatomia Humana ULBRA; <sup>2</sup>Fisiologia UFRGS; <sup>3</sup>Fisioterapia ULBRA

**Objetivo:**

O Onda Curtas (OC) é um aparelho muito utilizado no tratamento fisioterapêutico de lesões músculo-esqueléticas, porém, uma de suas contra-indicações é o período gestacional embora pouco se saiba sobre as abrangências de seus efeitos. Por isso, este estudo teve como objetivo investigar as alterações do perímetro encefálico, peso corporal e comprimento corporal da prole de ratas Wistar submetidas à aplicação do aparelho de forma contínua e indireta durante o período gestacional.

**Métodos e Resultados:**

Foram avaliados 150 ratos da prole de 16 ratas Wistar, sendo 63 do grupo teste (GT), 45 do grupo sham (GS) e 44 do grupo controle (GC). Para aplicação os animais foram colocados em caixas nas quais circularam livremente sendo que um recebia irradiação direta. O GT recebeu a aplicação de OC contínuo de forma indireta do 7º ao 14º dia gestacional. O GS foi submetido ao mesmo procedimento para aplicação da irradiação porém o aparelho não foi ligado. O GC foi somente acasalado e acompanhado durante a gestação. Ao nascimento os filhotes foram pesados (gramas), tiveram o perímetro encefálico (mm) e o comprimento corporal (cm) mensurados. Para análise estatística foi utilizado o teste estatístico Kruskal-Wallis seguido do teste Dunn's, sendo considerados significativos valores de  $p < 0,05$ . O GT apresentou as medidas de perímetro encefálico ( $11,97 \pm 1,7$ ) e comprimento corporal ( $6,25 \pm 0,31$ ) significativamente inferiores aos demais grupos (perímetro encefálico GS -  $13,68 \pm 1,14$ ; GC -  $14,79 \pm 2,32$ ; comprimento corporal GS -  $6,91 \pm 0,87$ ; GC -  $6,59 \pm 0,62$ ). Em relação ao peso corporal não houve diferenças significativas entre os grupos.

**Conclusões:**

A aplicação indireta de OC durante o período gestacional pode interferir em parâmetros morfométricos da prole. Portanto, a utilização do aparelho deve seguir critérios rigorosos, especialmente durante a gestação. Contudo, estudos adicionais são necessários para ampliar os conhecimentos acerca da abrangência dos efeitos do OC.

02.018

A DEFICIÊNCIA DO HORMÔNIO TIREOIDEANO DURANTE O DESENVOLVIMENTO ALTERA A DISTRIBUIÇÃO DAS PRINCIPAIS PROTEÍNAS DE OLIGODENDRÓCITO/MIELINA NO CORPO CALOSO DO RATO ADULTO. <sup>1</sup>Ferreira, A. A. A.; <sup>2</sup>Pereira, M. J. S.; <sup>1</sup>Barradas, P. C. <sup>1</sup>Farmacologia e Psicobiologia UERJ; <sup>2</sup>Ciências Fisiológicas UERJ

**Objetivo:**

Existem efeitos específicos de tri-iodotironina (T3) sobre a diferenciação de oligodendrócitos e a mielinização. A deficiência de T3 provoca redução no acúmulo de RNAm das proteínas de mielina durante o desenvolvimento, que é recuperada na vida adulta. Entretanto, não existem dados quanto à distribuição celular destas proteínas nas fibras mielinizadas do animal adulto submetido à deficiência de T3 durante o desenvolvimento. Neste trabalho avaliou-se à microscopia eletrônica, a distribuição da 2'3' nucleotídeo cíclico 3' fosfodiesterase (CNPase), da proteína básica de mielina (MBP) e proteína proteolípídica (PLP), em bainhas de mielina de axônios calosos de ratos adultos, em um modelo de hipotireoidismo.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados ratos Wistar adultos, normais e hipotireoideos (metimazol 0.02 % a partir do 19º dia de gestação e até o sacrifício). Os encéfalos foram obtidos após perfusão-fixação com paraformaldeído 4% + glutaraldeído 0.5% em tampão fosfato 0.1M pH7.4, pós-fixação com a mesma mistura e, cortados em vibrátomo. Peças com corpo caloso foram desidratadas, infiltradas em resina LR White, e posteriormente incluídas em cápsulas de gelatina com polimerização em estufa à 37°C por 4 a 5 dias. Cortes ultrafinos foram submetidos à imunomarcação pós-inclusão com a utilização dos anticorpos monoclonais anti-CNPase, anti-PLP, e anti-MBP, evidenciada pelo anticorpo secundário anti-camundongo acoplado a partículas de ouro-coloidal de 10nm. Para a análise quantitativa, a bainha de mielina foi dividida em três setores, delimitados a partir dos perfis interno e externo, e as partículas de ouro coloidal foram contadas em cada um destes setores com auxílio do programa Image Pro Plus (Media Cybernetics). Foi utilizado o teste estatístico de Mann-Whitney com intervalo de confiança de 95%. A imunomarcação da CNPase, MBP e PLP foi identificada nos sítios celulares anteriormente descritos no corpo caloso normal. No animal hipotireoideo, a CNPase foi identificada na região de lamelas compactas, que normalmente não contém CNPase. A PLP e a MBP apresentaram redução de marcação na região correspondente às lamelas compactas de mielina. A análise quantitativa demonstrou diferença significativa na contagem das partículas no animal hipotireoideo em comparação ao animal controle, nas regiões da bainha de mielina analisadas.

**Conclusões:**

Estes resultados demonstram que a deficiência de hormônio tireoideano, durante o desenvolvimento, altera a distribuição celular das principais proteínas de mielina, com possíveis conseqüências na compactação da bainha de mielina.

02.019

TRATAMENTO NEONATAL CRÔNICO COM FLUOXETINA INFLUENCIA O DESENVOLVIMENTO DO INTESTINO DELGADO? <sup>1</sup>Marinho, S. M. O. C.; <sup>2</sup>Aragão, R. S.\*; <sup>1</sup>Pinto, F. C. L.\*; <sup>1</sup>Callou, K. R. A.\*; <sup>1</sup>Silva, C. S.\*; <sup>1</sup>Soares, E. A. M. G.\*; <sup>1</sup>Ferreira-e-Silva, W. T.\*\*; <sup>1</sup>Silva, H. J.\*\*; <sup>3</sup>Moraes, S.R.A.; <sup>1</sup>Manhaes-de-Castro, R.; <sup>1</sup>Nutrição UFPE; <sup>2</sup>Fisioterapia UFPE; <sup>3</sup>Anatomia, UFPE

**Objetivo:**

Diversas estruturas e funções orgânicas apresentam períodos vulneráveis durante seu desenvolvimento. Alguns sistemas de neurotransmissão influenciam processos ontogenéticos, como o da serotonina-5-HT que desempenha papel importante nos tecidos, dentre eles os do trato digestório. Agressões farmacológicas a estes sistemas podem interferir em funções regulatórias importantes sobre o desenvolvimento de tecidos e órgãos. A fluoxetina é um inibidor seletivo de recaptção de 5-HT, substância que aumenta a disponibilidade sináptica de 5-HT. Neste trabalho foram investigados os eventuais efeitos da fluoxetina sobre o desenvolvimento intestinal.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar machos foram tratados durante a fase de aleitamento e divididos segundo tratamento: Fluoxetina-F, n=12 (fluoxetina 10mg/kg) e Controle-C, n=12 (NaCl 0,9%), 1ml/100g, sc. Animais de cada grupo foram sacrificados aos 22 (n=6), e o restante (n=6) aos 75 dias. O intestino delgado-ID foi coletado, mensurado e seccionado em dois segmentos: ID proximal-IDP e ID distal-IDD. Cada um destes foi fixado em Giemsa, a fim de que os neurônios mioentéricos fossem evidenciados. As lâminas dos preparados de membrana obtidos foram analisadas em microscópio óptico sob objetiva de 40X. Foi utilizado o teste "t" Student (p<0,05). O crescimento longitudinal (cm) do ID foi menor no grupo F em relação ao grupo C aos 22 (p=0,006) e aos 75 dias (p<0,001). O número de neurônios dos animais F aos 75 dias foi diminuído nos segmentos IDP (p<0,001) e IDD (p=0,006). A área ( $\mu\text{m}^2$ ) dos neurônios no IDD de F aos 75 dias apresentaram redução (p<0,001).

**Conclusões:**

Os dados sugerem que o uso crônico da fluoxetina, durante o início da vida interfere sobre o desenvolvimento do plexo mioentérico. Assim, mecanismos serotoninérgicos parecem participar do desenvolvimento de estruturas intestinais, particularmente, as do sistema nervoso entérico.

02.020

ESTUDO EXPERIMENTAL SOBRE A REPARAÇÃO DOS NERVOS MEDIANO E ULNAR DO RATO MEDIANTE ENXERTO DE MÚSCULO-NA-VEIA. <sup>1</sup>Benato, G.; <sup>1</sup>Parizotto, N. A.; <sup>2</sup>Geuna, S. <sup>1</sup>Fisioterapia, UFSCar <sup>2</sup>Dipartimento di Scenza Clínica e Biologica Università di Torino.

**Objetivo:**

Estudar a regeneração das fibras nervosas periféricas após a reparação com enxerto de músculo-na-veia dos nervos mediano e ulnar do rato.

**Métodos e Resultados:**

Em 30 ratos do sexo feminino, tipo Wistar, os nervos mediano e ulnar foram seccionados e reparados com o enxerto músculo-na-veia, seja singularmente (o coto proximal e distal do mesmo nervo), seja utilizando o enxerto de veia em formato "Y" suturada ao coto proximal do nervo ulnar, até os dois cotos distais do mediano e ulnar. A regeneração dos nervos foi avaliada com microscopia confocal, eletrônica, morfometria e teste funcional (grasping test). O método estatístico para a análise dos dados foi o ANOVA. Os resultados das análises ao microscópio confocal com o anticorpo anti-neurofilamento (para evidenciar os axônios), anti-GFAP (para evidenciar as células de Schwann) e ao microscópio eletrônico, demonstraram que as fibras musculares presentes no enxerto forneceram um ótimo substrato para a regeneração dos axônios, assim como para a migração de células de Schwann. A análise morfométrica demonstrou que as fibras regeneradas em ambos os nervos são significativamente mais numerosas (p<0,05) e mais densamente

distribuídas quando ( $P < 0,05$ ) comparadas aos nervos normais; porém, apresentam um diâmetro e uma espessura da mielina significativamente ( $P < 0,05$ ) menor a respeito dos nervos normais. Após o oitavo mês da cirurgia os animais operados atingiram uma performance no teste funcional de  $189 \pm 33g$ , que é significativamente ( $P < 0,05$ ) menor a respeito dos animais normais comparados aos 58% dos valores normais ( $324 \pm 18g$ ).

**Conclusões:**

Baseado nos resultados deste estudo é possível afirmar que a tubulização músculo-na-veia é uma técnica cirúrgica muito eficaz, para a reparação das lesões nervosas com perdas de substâncias dos nervos, no membro superior do rato. Essa técnica permite também a reparação de dois nervos partindo de um único coto proximal, quando se utiliza o enxerto em forma de "Y".

02.021

AS ALTERAÇÕES NA REDISTRIBUIÇÃO DA CNPASE EM OLIGODENDRÓCITOS MANTIDOS EM CULTURAS DEFICIENTE EM HORMÔNIO TIREOIDIANO NÃO SÃO CAUSADAS POR ALTERAÇÕES NA DISTRIBUIÇÃO DE ACTINA. Machado, T. S. C.\*; Younes, V. R.\*\*; Barradas, P. C. Farmacologia e Psicobiologia UERJ

**Objetivo:**

A deficiência do hormônio tireoídiano (T3) tem efeitos específicos sobre a diferenciação de oligodendrócitos e a mielinização no SNC e altera a distribuição de suas principais proteínas tanto *in vivo* como *in vitro*. Resultados anteriores *in vitro* demonstraram que a distribuição da 2' 3' dinucleotídeo cíclico 3' fosfodiesterase (CNPase) é afetada nas células hipotireoideas durante a diferenciação, não sendo redistribuída para as chamadas estruturas semelhantes a nervuras, estruturas estas que são constituídas de tubulina, actina e CNPase. Dados relatam que a deficiência de T3 altera a distribuição intracelular e a polimerização da actina durante o desenvolvimento de astrócitos, caracterizando assim um efeito não genômico do T3. Como a distribuição da CNPase e da tubulina nas células hipotireoideas é afetada pelo T3, nosso objetivo é avaliar se o T3 exerce algum efeito sobre a distribuição da actina e em sua relação com a CNPase, em um modelo *in vitro*.

**Métodos e Resultados:**

Culturas de hemisférios cerebrais de ratos neonatos, foram mantidas por três dias em meio DMEM-F12 com soro fetal bovino e, após, em meio definido para oligodendrócitos (meio N2B3). Induzimos o hipotireoidismo por administração de metimazole ao fim da gestação, e este foi mantido *in vitro* pela não adição de T3 ao meio N2B3. Após 3, 7 e 10 dias de cultivo obtivemos células típicas de oligodendroglia: células bipolares (progenitores), e multipolares sem véus (oligodendrócitos imaturos) ou com véus (mielinizantes). A imunomarcagem foi feita com os anticorpos primários anti-CNPase e anti-actina e revelados com os anticorpos secundários anti-camundongo 546 e anti-coelho 488 (ALEXA FLUOR) respectivamente. As células imunorreativas à CNPase apresentaram a mesma distribuição já caracterizada anteriormente, ou seja, nas culturas controle se redistribuí para as estruturas semelhantes a nervuras e nas culturas hipotireoideas ela se mantém com uma distribuição pontual. Porém, a imunorreatividade para actina não mostrou alteração, uma vez que ela se apresentava distribuída por todo o corpo celular e prolongamentos.

**Conclusões:**

A deficiência de T3 não exerce efeito sobre a distribuição da actina durante a diferenciação do oligodendrócito, como ocorre nos astrócitos, demonstrando que as mudanças observadas na redistribuição de CNPase não se devem a alterações na distribuição deste componente do citoesqueleto.

02.022

EXPRESSÃO DO MHC CLASSE I E SUA INFLUÊNCIA SOBRE AS ALTERAÇÕES SINAPTOLÓGICAS EM CAMUNDONGOS DE DIFERENTES LINHAGENS ISOGÊNICAS APÓS A TRANSECÇÃO DO NERVO CIÁTICO. Sabha Jr., M.\*\*; Oliveira, A. L. R. Anatomia UNICAMP

**Objetivo:**

Os mecanismos que regem o processo de eliminação sináptica no SNC são virtualmente desconhecidos. Recentemente, um mecanismo envolvendo a expressão do complexo de histocompatibilidade principal (MHC I) foi proposto. Uma vez que diferentes camundongos

isogênicos expressam variáveis quantidades de MHC I após lesão e que as mesmas apresentam diferentes capacidades regenerativas, o presente estudo teve como objetivo correlacionar a expressão de MHC I com a retração de terminais nervosos em camundongos das linhagens A/J, Balb/cJ e C57BL/6J.

**Métodos e Resultados:**

Camundongos machos adultos com 6 a 8 semanas (n=10 para cada uma das três linhagens), tiveram o nervo ciático esquerdo transecionado, sendo o período de sobrevivência de 1 semana. Os animais foram sacrificados, sendo as medulas processadas para imunistoquímica (IH) e microscopia eletrônica de transmissão (MET). Os espécimes para IH foram fixados com formalina 10% e congelados em tissue-tek e aqueles para MET, com glutaraldeído 2,5%, sendo incluídos em araldite. Para IH foram utilizados anticorpos anti-sinaptofisina e anti-MHC I, sendo os preparados observados em microscópio confocal. Os resultados de IH demonstraram uma expressão de MHC I significativamente superior na linhagem A/J, comparativamente aos animais Balb/cJ e C57BL/6J, os quais apresentaram níveis semelhantes de expressão dessa molécula. Adicionalmente, observou-se uma diminuição mais acentuada da imunomarcagem para sinaptofisina nos camundongos A/J. Os resultados de MET demonstraram uma menor retração sináptica na linhagem A/J.

**Conclusões:** Tendo-se em vista que os camundongos A/J apresentam uma maior capacidade regenerativa axonal, comparativamente às outras linhagens estudadas, é possível que as diferenças observadas na expressão de MHC I bem como no processo de eliminação sináptica, contribuam para o potencial regenerativo dos neurônios axotomizados.

02.023

VIAS NERVOSAS ANTERIORES DOS GÂNGLIOS PEDAIS ENVOLVIDAS NA INERVAÇÃO DA MUSCULATURA PEDIOSA DO CARACOL TERRESTRE *MEGALOBULIMUS OBLONGUS*.

Marchi, M. L.; Faccioni-Heuser, M. C.; Puperi, C.; Elena, M. A. CCBS-UFRGS

**Objetivo:**

Realizar a marcação das vias nervosas anteriores dos gânglios pedais (GP) envolvidas na inervação da musculatura pediosa, através da técnica de infusão retrógrada e anterógrada de cloreto de cobalto.

**Métodos e Resultados:**

Após anestesia foram retirados o complexo subesofageano juntamente ao nervo (Direito ou Esquerdo) para marcação retrógrada; ou retirado um destes nervos juntamente à porção do pé na qual se inseria para marcação anterógrada. As marcações foram feitas *in vitro* com  $\text{CoCl}_2$  0,2M. Após incubação a 4°C por 48h o material foi revelado em sulfeto de amônio 0,2%, fixado em Carnoy, crioprotetido, seccionado em criostato (50µm), intensificado em  $\text{AgNO}_3$ , diafanizados e cobertos com bálsamo e lamínula.

**Resultados:**

Pela marcação retrógrada dos nervos anteriores do GP identificou-se um grande número de fibras e somas neuronais localizadas no neuropilo ipsilateral, comissura pedal-pedal, neuropilo do GP contralateral, conetivo pedal-pleural e neuropilo do gânglio pleural (GPI) ipsilateral. Os somas neuronais localizavam-se no GP ipsilateral e contralateral e no GP contralateral. A marcação anterógrada mostrou nervos calibrosos com axônios individualmente marcados penetrando pela região dorsal da região anterior do pé. Estes nervos ramificam-se e os ramos menos calibrosos dirigem-se ao tegumento ventral. No epitélio ventral observaram-se neurônios marcados com seus processos dendríticos na região apical deste epitélio.

**Conclusões:**

Neurônios do GP e GPI originam os nervos anteriores do GP, os quais inervam parcialmente a musculatura pediosa.

02.024

EXPRESSÃO DE RECEPTORES DE GLUTAMATO TIPO AMPA NA RETINA DE CAMUNDONGOS APÓS DEGENERAÇÃO RETINIANA INDUZIDA PELA LUZ. Secco, M.;

Belmonte, M. A. \*\*; Santos, M. F.; Hamassaki-Britto, E.; Biologia Celular e do Desenvolvimento ICB-USP

**Objetivo:**

Estudar sistematicamente as alterações adaptativas das células retinianas remanescentes após indução da degeneração por luz. A ênfase foi dada às subunidades de receptores ionotrópicos de glutamato, visto que este é o principal neurotransmissor dos fotorreceptores, células bipolares e ganglionares.

**Métodos e Resultados:**

Camundongos albinos (Balb/c) adultos mantidos no escuro por 18 hs foram expostos à luz fluorescente branca (5000 lux) por 2 hs e sacrificados imediatamente e após 1, 2, 10 e 30 dias. Cortes transversais da retina foram processados para imuno-histoquímica com anticorpos primários contra GluR 1, 2/3, 4 (Chemicon, 1:50) e secundários conjugados com Alexa488 (1:500, Molecular Probes). Nos camundongos controles – não submetidos ao insulto degenerativo – a marcação para as subunidades AMPA apresentava aspecto puntiforme e predominante nas camadas plexiformes. Nos animais estimulados foi observada uma diminuição na imunoreatividade, principalmente na camada plexiforme externa após 10 e 30 dias, quando comparados ao controle. GluR1 aumentou progressivamente nas camadas nuclear interna e ganglionar após 1 a 2 dias, ao mesmo tempo em que diminuiu a intensidade de marcação nas plexiformes. Por sua vez, GluR4 aumentou após 2 hs de estímulo, retornando depois de 2 dias ao padrão observado no controle; após 10 e 30 dias, pode ser detectada uma marcação puntiforme se espalhando pela camada nuclear externa remanescente.

**Conclusões:**

A degeneração progressiva dos fotorreceptores leva a modificações no padrão de distribuição das subunidades AMPA de receptores de glutamato, que são específicas para cada subunidade. Embora essas alterações ocorram principalmente nos neurônios de segunda-ordem (células bipolares e horizontais), os demais participantes dos circuitos retinianos (células amácrinas e ganglionares) também podem ser afetados.

02.025

LAYER-SPECIFIC DISTRIBUTION OF CYTOCHROME OXIDASE AND CALCIUM-BINDING PROTEINS IN THE VISUAL WULST OF THE OWL. <sup>1</sup>Castello-Branco, E.C.; <sup>2</sup>Botelho, E. P.\*\*; <sup>2</sup>Soares, J. G. M.; <sup>3</sup>Bohórquez-Mahecha, G. A.; <sup>2</sup>Gattass, R.; <sup>1</sup>Baron, J. <sup>1</sup>Fisiologia e Biofísica UFMG; <sup>2</sup>Neurobiologia IBCCF-UFRJ; <sup>3</sup>Morfologia UFMG

**Objetivo:**

The visual Wulst (vW) is the telencephalic target of the retinohalamofugal pathway of birds. In owls, this unimodal structure is highly developed, prominently laminated, and strikingly similar to the mammalian primary visual cortex when considering the visual response properties of its constituent neurons. Here, we used cytochrome oxidase (CO) and the calcium-binding proteins parvalbumin (PV) and calbindin (CB) as endogenous markers of neuronal activity to gain a better understanding of the functional organization of the owl vW.

**Métodos e Resultados:**

Serial 50µm-thick coronal brain sections from two adult barn owls (*Tyto alba*) and three adult burrowing owls (*Athene cunicularia*) were prepared and stained for CO, PV, CB using standard histochemical and immunohistochemical procedures. Staining for the three proteins had a clear, albeit non-overlapping, laminar pattern that was coincident with the vW layers defined on both cyto- and myelo-architectonic grounds by staining adjacent sections with the Nissl and Gallyas method, respectively. The reaction for CO and PV intensively labeled the neuropil of the interstitial layer of the hyperpallium apicale (IHA) and, to a lesser extent, of the apical layer of the hyperpallium (HA). While no distinguishable cellular staining was associated with the CO reaction, a high density of small PV-immunoreactive (Ir) neurons was observed in the lower half of IHA. The reaction for CB resulted in a comparatively fainter staining but intensively labeled scattered neurons, varying in soma size and dendritic profile according to their laminar location.

**Conclusões:**

Like in the mammalian primary visual cortex, the layer-specific staining of CO, PV and CB in the owl vW is likely to reflect functional specialization.

02.026

ESTUDO DE PROLIFERAÇÃO CELULAR NUM MODELO DE ATAXIA CEREBELAR. <sup>1</sup>Cavalcante, L. A.; <sup>2</sup>Pina Rodrigues, F. M.\*; <sup>2</sup>Araújo, V. M.\*; <sup>2</sup>Rocha, E. \*\* <sup>1</sup>Neurobiologia IBCCF-UFRJ; <sup>2</sup>IBCCF-UFRJ

**Objetivo:**

Diferentes trabalhos têm mostrado que a plasticidade do sistema nervoso não é interrompida com o fim do desenvolvimento. A gênese de novos neurônios, em cérebro de mamíferos adultos, tem sido documentada na camada subgranular do giro dentado e na zona subventricular dos ventrículos laterais. Uma variedade de modelos de lesão neural podem ser utilizados para observação e estudo das respostas de plasticidade do sistema nervoso. Neste trabalho utilizamos um modelo de ataxia cerebelar, induzida pela neurotoxina 3-acetilpiridina (3-AP), para avaliar a resposta de plasticidade no núcleo olivar inferior. Verificar, através de imuno-histoquímica, a relação entre a alteração motora e/ou sua recuperação, observada em ratos submetidos a ação da 3-AP, e a resposta proliferativa da zona subventricular e o perfil fenotípico das células do núcleo olivar inferior.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar P30-35 foram submetidos a uma única injeção intraperitoneal de 3-AP e sacrificados após 24h, 4, 10 e 21 dias. Para análise de proliferação celular, os animais foram submetidos a injeção de 5-bromo-2'-deoxiuridina (BrdU), a cada três dias. Após perfusão intracardíaca, com paraformaldeído 4% e crioproteção, os encéfalos foram dissecados. O material foi incluído em OCT e seccionado em criostato. A análise imuno-histoquímica foi feita utilizando-se anticorpos primários contra um marcador de proliferação celular, anti-BrdU e contra marcador neuronal, Anti- $\beta$ III tubulina. Anticorpos secundários conjugados a Cy3 e alexa 488 foram utilizados para evidenciação das células em microscópio confocal Zeiss. Os resultados mostraram a presença de células BrdU positivas no núcleo olivar inferior dos animais tratados com 3-AP e após 21 dias, células duplamente marcadas (BrdU e  $\beta$ III tubulina positivas).

**Conclusões:**

A presença de células duplamente marcadas no núcleo olivar inferior sugere uma resposta proliferativa com a formação de novos neurônios.

02.027

EXPRESSÃO DE UM MARCADOR DE MIGRAÇÃO CELULAR DURANTE O DESENVOLVIMENTO DO CEREBELO DE ANIMAIS SUBMETIDOS A UM MODELO DE DESNUTRIÇÃO PROTÉICA. <sup>1</sup>Montanha-Rojas, E.A.; <sup>2</sup>Cavalcante, L. A.; <sup>1</sup>Barradas, P. C. <sup>1</sup>Farmacologia e Psicobiologia UERJ; <sup>2</sup>IBCCF-UFRJ

**Objetivo:**

A desnutrição pós-natal acarreta diminuição no peso da prole, bem como, afeta diversas etapas de maturação do Sistema Nervoso Central, como a divisão celular, migração celular, sinaptogênese, síntese e liberação de neurotransmissores e mielinização. Em trabalhos anteriores, observamos que uma dieta hipoprotéica restrita aos primeiros 10 dias de lactação, altera o desenvolvimento do cerebelo, com um atraso na expressão de proteínas envolvidas na mielinogênese, como a proteína básica de mielina (MBP) e a proteína proteolipídica (PLP), assim como mudanças na citoarquitetura, compatíveis com alterações na migração radial no cerebelo. Neste trabalho, avaliamos a expressão do 9-o-acetil gangliosídeo (reconhecido pelo anticorpo monoclonal Jones), que é uma molécula de superfície regulada durante o desenvolvimento e relacionada ao processo de migração celular.

**Métodos e Resultados:** Foram utilizados ratos Wistar machos a partir dos dez dias de vida pós-natal. No dia do nascimento as ninhadas foram igualadas em 6 animais por nutriz. Um grupo de nutrizas foi mantido com ração comercial com 22% de proteína (C), enquanto o grupo experimental (D) recebeu ração com 0% de proteína até o décimo dia de amamentação, passando a receber a ração comercial após este período. Os animais foram anestesiados e perfundidos com salina, seguida de paraformaldeído 4%. Os cerebelos foram isolados e cortados em plano parasagital (30 $\mu$ m) em criótomo. Os cortes foram incubados com o anticorpo Jones (IgM), posteriormente revelado pelo método da biotina-extravidina, utilizando o Cy3 como fluorocromo. Na segunda semana de vida pós-natal, no grupo C, a marcação com o Jones está localizada na camada granular externa, camada molecular e prospectiva camada granular interna tanto nas folhas

rostrais como nas caudais. O grupo D, neste mesmo período, apresenta marcação mais concentrada na camada granular externa, nas folhas mais anteriores do cerebelo (folhas 1, 2 e 3) e ausência em outras folhas.

**Conclusões:** Estes resultados sugerem que o déficit nutricional promove um atraso no estabelecimento do padrão normal de distribuição do gangliosídeo que pode interferir no processo de migração celular e estabelecimento da citoarquitetura no cerebelo.

02.028

COMPRESSÃO AXONAL *IN VITRO* COM PINÇA ÓPTICA LASER. Carvalho, A.L.; Afonso, R. C. H.; Pontes, B.\*; Viana, N.B.; Moura-Neto, V.; Nussenzveig, H. M.; Ary-Pires, R.; Pires Neto, M. A. Anatomia CCS-UFRJ

**Objetivo:**

Estabelecer a metodologia de utilização da pinça óptica Laser em procedimento de compressão de axônios de células ganglionares da retina (CGRs) mantidas em cultura. Observar os efeitos morfológicos da compressão axonal *in vitro* através de videomicroscopia temporizada.

**Métodos e Resultados:**

Ratos neonatais (P0-P5) foram anestesiados por hipotermia e submetidos a neurocirurgia para injeção de microesferas de rodamina em seus colículos superiores para marcação retrógrada das CGRs. Após 2 dias de sobrevivência os animais foram sacrificados, suas retinas dissecadas e realizado o procedimento de cultura de células dissociadas em monocamada (densidade de plaqueamento de 100.000 células/cm<sup>2</sup>). Em seguida foi estabelecida a metodologia de compressão axonal utilizando pinça óptica laser. Os efeitos morfológicos determinados pela compressão axonal crônica foram analisados morfometricamente, evidenciando alteração estatisticamente significativa no diâmetro axonal médio ( $p < 0,05$ ).

**Conclusões:**

Foi estabelecido um modelo experimental de compressão axonal *in vitro* que possibilitará o aprofundamento do estudo de processos de orientação axonal e de resposta à lesão envolvidos na regeneração do sistema nervoso.

02.029

METHYLMERCURY CONTAMINATION INCREASES PROLIFERATION IN THE ADULT RAT BRAIN. Ignácio, A. R. A.; Costa, M. B.\*; Kehrig, H. A.; Malm, O.; **Pereira, C. H.** IBCCF-UFRJ

**Objetivo:**

It has been shown that ischemic events lead to an increase in neurogenesis in the dentate gyrus and subventricular zone (SVZ) in adult rats. In this study we investigated if methylmercury intoxication in adult rats led to an increase of proliferation in the SVZ.

**Métodos e Resultados:**

For this we intoxicated two-month old rats by oral administration of one dose of a methylmercury solution (1,5mg/ml, 5mg/kg) containing an equimolar concentration of L-cystein. Intoxicated and control rats received BrdU (10mg/ml, 100mg/kg) injections 6 and 14 days (d) after intoxication. Each animal received 3 intraperitoneal injections with 4 hour intervals. After 24h of the last injection, animals were perfused transcardially with 4% paraformaldehyde. Brains were cryosectioned coronally at 12µm and immunoprocessed for BrdU. Fluorescent nuclei were counted in the dorso-lateral wall of the lateral ventricles within the limits of 0,20mm to -0.30mm of Bregma. Total Hg concentrations were measured by Flow Injection Mercury System, Perkin-Elmer in blood, brain, cerebellum, liver and kidney 7 and 15 days after intoxication. The highest Hg concentrations were found in kidney [mean±SD, 38.257±4920µg/kg (7d) and 18.943±1370,62 µg/kg (15d)] whereas in the nervous system the values were 2661±1082µg/kg (7d) for the cerebrum and 2524±799,2µg/kg (7d) for the cerebellum. BrdU incorporation revealed increase in SVZ proliferation of intoxicated [127,09 ± 11,79 labeled cells (7d) and 148,50±24,72 (15d)] when compared with control animals (89,250±13,09 labeled cells). Labeled cells both with 7 and 15 days after intoxication revealed significant differences when compared to control values (paired T-test).

**Conclusões:**

In this work we showed that methylmercury intoxication led to an increase in SVZ proliferation in adult rats. It remains to be seen if these cells in fact generate new neurons. However, it opens new research possibilities concerning cell replacement strategies for mercury intoxication.



02.030

A INFLUÊNCIA DO CROMOGLICATO DE SÓDIO NA REGENERAÇÃO DA FIBRA MUSCULAR DISTRÓFICA. Machado, R. V.\*\*; Ramirez, B.\*; Minatel, E; Santo-Neto, H.; Marques, M. J. Anatomia UNICAMP

**Objetivo:**

Camundongos *mdx* apresentam ausência de distrofina, instabilidade sarcolemal e ciclos de degeneração-regeneração muscular, sendo um modelo experimental da distrofia muscular de Duchenne (DMD). Na terapia farmacológica da DMD, os antiinflamatórios são amplamente estudados. O cromoglicato de sódio é um antiinflamatório não hormonal que estabiliza a membrana dos mastócitos e que melhora a força de contração dos *mdx*. No presente trabalho, verificamos se o cromoglicato estabiliza o sarcolema e impede a mionecrose do *mdx*.

**Métodos e Resultados:**

Método: Camundongos *mdx* (n=5) com 07 dias de vida receberam cromoglicato de sódio (CRO-50mg/kg/dia) via oral durante 6 semanas. O grupo controle (n=5 *mdx*; CTRL) recebeu água. Para análise da integridade do sarcolema, injetou-se o marcador fluorescente azul de Evans 1% (AE-0,01ml/g) intraperitoneal, 12 horas antes do sacrifício. Após 6 semanas, os músculos esternomastóide (STN), gastrocnêmio (GAS), sóleo (SO) e tibial anterior (TA) foram retirados e cortes congelados foram corados com HE, para quantificação de fibras com núcleo central ou observados ao microscópio de fluorescência, para quantificação do número de fibras positivas ao AE.

Resultados: Não houve diferença significativa na % de fibras com núcleo central e marcadas com AE, entre os músculos dos referidos grupos experimentais. Nos músculos tratados com CRO a % média de fibras com núcleo central foi 55,3±2,0 e nos CTRL, 57,6±6. A % de fibras positivas ao AE foi 6,7±2,3 no grupo CRO e 7,1±2,0 no CTRL (p> 0,05, Teste t, Student's).

**Conclusões:**

Conclusão: o tratamento com o cromoglicato de sódio, nas condições descritas, não impediu os ciclos de degeneração que ocorrem durante o desenvolvimento normal do *mdx*, provavelmente por não atuar na estabilidade do sarcolema.

02.031

EFFECTS OF SURGICAL DENERVATION IN WOUND HEALING – MACROSCOPIC AND MICROSCOPIC ANALYSIS. Salmon, B. S.; Costa, A. M. A. Histologia e Embriologia UERJ

**Objetivo:**

The role of peripheral nerves in cutaneous wound healing is poorly understood. There is increasing evidence that innervation, possibly mediated by neuropeptides, affects cutaneous wound healing. The aim of this study was to investigate the effects of surgical denervation on rat excisional wound healing.

**Métodos e Resultados:** Male Wistar rats (250-300g) (n=15) were used. In denervated side saphenous nerve was isolated and sectioned (approximately 1cm was excised), in the contra lateral region (control side) the saphenous nerve was manipulated but kept intact. A full-thickness excisional lesion (1cm<sup>2</sup>) was created on the medial surface of the thigh in both sides. The lesion area was measured to evaluate wound contraction. Euthanasia was performed 5, 8 or 14 days after wounding. After euthanasia, the lesion and adjacent normal skin were formol-fixed and paraffin-embedded. Sections were stained with hematoxylin-eosin, Sirius red, Toluidine blue, and immunostained for  $\alpha$ -smooth muscle actin. The denervated side presented delayed wound contraction 5 and 8 days after wounding (p<0,05), when compared to control side. Animals denervated showed a reduction in the amount of mast cells and a decrease in re-epithelialization. The volume density of blood vessels and polymorphonuclear migration were increased in denervated group in all time points analyzed.

**Conclusões:**

In the devervated tissues the formation of granulation tissue is disturbed, and wound contraction and re-epithelialization impaired. Those effects may be attributed to the loss of neuropeptides secretion from the nerve endings, that leads to an impaired cutaneous wound healing.

02.032

ESTUDO DA DENSIDADE DE ESPINHOS DENDRÍTICOS NA REGIÃO CA1 HIPOCAMPAL APÓS O TREINO EM ESQUIVA INIBITÓRIA. Brusco, J.; Simonetto, A.\*; Verdi, K.\*; Martins, C. A.\*; Martins, T.\*; Silva, A. M.\*; Rasia-Filho, A. A.; Fin, C. A.; Ciências Fisiológicas FFFCMPA

**Objetivo:**

Acredita-se que a formação ou a eliminação de novos contatos sinápticos contribua para o processamento de informações e a formação das memórias de longa-duração. O objetivo deste estudo é determinar a densidade de espinhos dendríticos na região CA1 hipocampal de ratos, 6 h pós-treino na tarefa da esQUIVA inibitória, período no qual ocorrem os picos de atividade das proteínas PKA/CREB-fosforilado e MAPK e conseqüentes alterações bioquímicas durante a consolidação deste tipo de memória, nesta região cerebral.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar machos, entre 2 e 3 meses de idade foram 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, perfundidos por via transcardíaca e tiveram seus encéfalos removidos para a realização da técnica de impregnação de Golgi e, posterior análise histológica. Até o presente momento foram obtidos dados de 2 animais por grupo. A densidade de espinhos dendríticos foi significativamente maior (Student-Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ) no grupo treinado (média  $\pm$  desvio padrão:  $2,171 \pm 0,65$ ) em relação aos grupos controle ( $1,784 \pm 0,324$ ) e choque ( $1,82 \pm 0,358$ ).

**Conclusões:** Estes resultados parciais sugerem que o estabelecimento de novos contatos sinápticos na região CA1 hipocampal, 6h pós-treino em esQUIVA inibitória é necessário para a consolidação deste tipo de memória, em ratos.

02.033

EFFECT OF NUMBER OF TAILSHOCKS ON LEARNED HELPLESSNESS AND ACTIVATION OF SEROTONERGIC AND NORADRENERGIC NEURONS IN THE RAT. <sup>1</sup>Takase, L. F.; <sup>1</sup>Nogueira, M. I.; <sup>2</sup>Bland, S. T.; <sup>2</sup>Baratta, M.; <sup>3</sup>Watkins, M.; <sup>2</sup>Maier, S. F.; <sup>3</sup>Fornal, C. A.; <sup>3</sup>Jacobs, B. L. <sup>1</sup>Anatomia ICB III-USP; <sup>2</sup>Psychology Colorado University; <sup>3</sup>Neuroscience University of Princeton

**Objetivo:**

Analyze the activation of serotonergic and noradrenergic neurons after a variable number of inescapable tailshocks.

**Métodos e Resultados:**

Adult male albino rats were exposed to varying numbers of tailshocks (0, 10, 50 or 100). The following day, their escape latencies in a shuttlebox were measured in order to estimate the degree of learned helplessness (LH) produced by the varying number of shocks. Only the groups exposed to 50 or 100 shocks displayed evidence of LH. In a parallel experiment, *c-fos* activation was used to determine the degree of activation of raphe serotonergic neurons (FosIR + 5-HT) and locus coeruleus (LC) noradrenergic neurons (FosIR + TH) produced by the same shock conditions. Compared to unhandled cage controls, all shock groups (0 shocks was a restrained group) significantly activated both raphe and LC neurons. The 50 and 100 shock groups had significantly higher degrees of activation of serotonergic neurons in the rostral raphe groups and the LC than the 0 and 10 shock groups (Table2).

**Conclusões:**

These data are consistent with the hypothesis that activation of rostral raphe serotonergic neurons and LC noradrenergic neurons beyond a certain threshold may be critical for the development of LH. The relevance of these results for elucidating the neural bases of psychopathology are discussed.

02.034

EFFECTS OF SLEEP DEPRIVATION AND RECOVERY SLEEP UPON CELL PROLIFERATION IN THE DENTATE GYRUS OF ADULT RATS. <sup>1</sup>Fornal, C.; <sup>1</sup>Takase, L. F.\*; <sup>2</sup>Tung, A.; <sup>3</sup>Jacobs, B.L.; <sup>1</sup>Psychology, USP; <sup>2</sup>Anesthesia and Critical Care Sleep Research Laboratory; <sup>3</sup>Psychology, University of Princeton

**Objetivo:**

It is well known that sleep deprivation leads to significant declines in cognitive function, which are reversible following sleep. Since there is compelling evidence that the production of new neurons in the adult hippocampus is critical for a number of types of new learning and memory, we investigated: 1) whether acute sleep deprivation would suppress cell proliferation; and 2) whether the recovery sleep that follows deprivation is associated with *increased* cell proliferation above basal levels.

**Métodos e Resultados:**

Using the disk-over-water technique, one group of rats was sleep deprived for 56 hours while another group was sleep deprived for 48 hours and then allowed an 8 hour period for recovery sleep. At 54 hours, rats were injected with bromodeoxyuridine (BrdU; 200 mg/kg, i.p.) and perfused 2 hours later, for BrdU immunohistochemistry. The data from these groups were compared to that of a control group, allowed to sleep *ad libitum*. As expected, the sleep deprivation produced a substantial suppression of cell proliferation (~ 40%), as measured by the number of BrdU labeled cells in the dentate gyrus. This effect was more pronounced in the posterior versus anterior hippocampus. Contrary to what was predicted, recovery sleep *did not* lead to an enhanced level of cell proliferation. In fact, no recovery of cell proliferation was observed during the 8 hour recovery period, despite the large compensatory increases in sleep.

**Conclusões:**

Overall, these data demonstrate that a modest period of sleep deprivation can exert a strong suppressant effect on cell proliferation in the rat dentate gyrus that persists beyond an 8 hour sleep recovery period. This suppression may underlie the impairment of cognitive function associated with sleep loss.

02.035

LIBERAÇÃO DE GABA INDUZIDA POR AMINOÁCIDOS EXCITATÓRIOS NA RETINA DE GALINHA. <sup>1</sup>Moreira, L. S.\*; <sup>2</sup>Gardino, P. F.; <sup>2</sup>Mello, F. G.; <sup>1</sup>Calaza, K. C. <sup>1</sup>Neurobiologia UFF; <sup>2</sup>Neurobiologia IBCCF-UFRJ

**Objetivo:**

Glutamato (GLU) e GABA (ácido gama-aminobutírico) são os principais neurotransmissores excitatório e inibitório da retina, respectivamente. Na retina de galinha GABA é localizado nas células horizontais, amácrinas e camada de células ganglionares (CCG) que participam da via modulatória lateral. Foi demonstrado previamente que a ativação de receptores ionotrópicos (iGluRs) dos aminoácidos excitatórios estimulam a liberação do GABA nas células da camada nuclear interna da retina. O objetivo deste trabalho é verificar o envolvimento de receptores metabotrópicos (mGluRs) e iGluRs do glutamato na liberação de GABA na CCG da retina de aves. Os mGluRs estão agrupados em três classes e, portanto, pretendemos estudar quais os tipos específicos de mGluRs que participam desta circuitaria.

**Métodos e Resultados:**

Retinas de embrião pinto de 14 dias foram estimuladas com diferentes agonistas e antagonistas de mGluRs e iGluRs, 100µM kainato (KA) ou 100µM NMDA (n=5). A detecção da liberação de GABA foi realizada através da imunocitoquímica. Verificamos que trans-ACPD (100µM), um agonista geral dos mGluRs, e quisqualato (100µM), agonista da classe I, diminuem o número de células GABA-positiva na CCG em 50% e 60% respectivamente. Este efeito é bloqueado por AIDA, antagonista geral desses receptores. Em relação aos iGluRs, o KA diminui o número de células GABA-positivas na CCG no entanto o NMDA não exerceu efeito nesta camada.

**Conclusões:**

Nossos resultados sugerem que a estimulação de mGluRs e de receptores KA, mas não NMDA, promovem a liberação de GABA na CCG. Portanto, a ação do Glu nas células GABAérgicas, que participam do processamento lateral, da CCG só ocorre através dos mGluRs e KA na retina de pinto.

02.036

PROJEÇÕES TALÂMICAS PARA ÁREAS SOMESTÉSICAS E MIELOARQUITURA DO CÓRTEX DO GAMBÁ. <sup>1</sup>Anomal R. F.; <sup>2</sup>Arrigoni-Coelho J.\*; <sup>3</sup>Rocha, V. R.\*\*; <sup>2</sup>Franca, J. G.; <sup>1</sup>Biofísica CCS-UFRJ; <sup>2</sup>IBCCF-UFRJ <sup>3</sup>Neurobiologia UFRJ

**Objetivo:**

Sugeriu-se previamente (J. Comp. Neurol. 198; 365, 1981) uma sobreposição de projeções talâmicas somestésicas e motoras para a área somestésica primária (S1) do gambá (*Didelphis s.p.*). Tal estudo usou HRP, um traçador de maior espalhamento e com potencial de contaminação de áreas corticais vizinhas. Buscamos reinvestigar este padrão de projeção após injeções circunscritas de traçadores fluorescentes retrógrados de pequeno espalhamento em S1 desta espécie. Adicionalmente, analisamos e descrevemos o padrão mieloarquitetônico do córtex do gambá.

**Métodos e Resultados:**

Gambás adultos foram injetados com cerca de 0.6 ml de Fluoro-ruby (FR) na representação da pata anterior de S1, identificada através de registro eletrofisiológico. Após 7 dias de sobrevivência, S1 foi mapeada, sendo o animal perfundido a seguir. O córtex foi aplanado após separação do diencéfalo. Duas séries de seções tangenciais do córtex foram separadas para análise da distribuição de FR e para marcação de mielina (Gallyas). Cada injeção apresentou cerca de 0.1 a 0.6 mm de diâmetro horizontal. Cortes coronais do tálamo foram alternados para análise da marcação retrógrada de FR ou da citoarquitetura (Nissl). Os núcleos xVL (motores) e xVB (somestésicos) apresentaram simultaneamente células retrogradamente marcadas após uma única injeção em S1. O córtex somestésico, auditivo e visual primário marcaram-se intensamente para mielina. O córtex peri-estriado apresentou-se em geral bem menos marcado, com exceção de um campo medial, intensamente mielinizado.

**Conclusões:**

Uma única injeção de FR no córtex somestésico revela afinidades tanto dos núcleos motores quanto dos núcleos somestésicos do tálamo, confirmando a ausência de segregação entre os dois tipos de projeções neste marsupial. Isto é diferente do que ocorre em outras espécies de mamíferos, onde a terminação dos núcleos motores talâmicos se dá predominantemente sobre áreas motoras do córtex.

02.037

TOPOGRAFIA E ARQUITETURA DAS ÁREAS SOMESTÉSICA E VISUAL DE AGOUTI. <sup>1</sup> Dias, I. A.; <sup>2</sup> Franca, J. G.; <sup>1</sup> Houzel, J. C.; <sup>3</sup> Santiago, L. F.; <sup>4</sup> Silveira, L. C. L.; <sup>3</sup> Diniz, C. W. P.; <sup>4</sup> Pereira Júnior, A. <sup>1</sup> Anatomia CCS-UFRJ; <sup>2</sup> Biofísica ICB-UFRJ; <sup>3</sup> Histologia UFPA; <sup>4</sup> Fisiologia, UFPA

**Objetivo:**

Analisar a cito e a mieloarquitetura das áreas somestésica e visual, correlacionando com o mapeamento eletrofisiológico destas regiões

**Métodos e Resultados:**

Sete cutias adultas foram anestesiadas e submetidas ao mapeamento eletrofisiológico multiunitário do córtex somestésico ou visual. Em alguns experimentos, a estimulação auditiva foi testada nas penetrações mais laterais. Ao final do experimento, foram feitas lesões eletrolíticas para permitir a reconstrução histológica das seções. Após a perfusão e microtomia, seções tangenciais alternadas foram processadas para citocromo oxidase, mielina e Nissl. Foram revelados três campos corticais fortemente marcados para citocromo oxidase e mielina. Dois desses campos corresponderam eletrofisiologicamente as áreas somestésica primária (S1) e visual primária (V1). A terceira região corresponde provavelmente à área auditiva primária (A1), devido à sua localização e propriedades de resposta. A mieloarquitetura de S1 revelou um conjunto de septos separando a representação de diferentes regiões do corpo. Dois septos bem evidentes e fracamente mielinizados foram identificados separando a representação da cabeça da representação da pata anterior. Na região da representação de pata anterior três septos foram identificados separando a representação dos dedos. Na região caudal do córtex uma série de bandas densamente mielinizadas e com variabilidade para atividade da citocromo oxidase parecem corresponder a diferentes áreas visuais descritas anteriormente (Braz. J. Méd. Biol. Res, 22: 121, 1989).

**Conclusões:**

A mieloarquitetura e marcação de citocromo oxidase no neocórtex da cutia revela um padrão coerente com a distribuição de diferentes áreas, no córtex visual, e com a representação somatotópica no córtex somestésico

02.038

**ADMINISTRAÇÃO DE FLUOXETINA DURANTE A LACTAÇÃO: ESTUDO DOS NEURÔNIOS SEROTONINÉRGICOS NO NÚCLEO DORSAL DA RAFE EM RATOS WISTAR.** <sup>1</sup>Mendes da Silva, C.; <sup>2</sup> Manhães-de-Castro, R.; <sup>1</sup>Nogueira, M. I.; <sup>1</sup>Anatomia - ICB III-USP; <sup>2</sup>Nutrição UFPE

**Objetivo:**

Avaliar o efeito do tratamento neonatal com Fluoxetina, antidepressivo que atua como Inibidor Seletivo da Recaptação de Serotonina (ISRS), sob o número de neurônios serotoninérgicos (5-HT) no núcleo dorsal da rafe (DR).

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar foram divididos em dois grupos: 1) Controle (n=4), recebeu NaCl 0,9% (s.c) e 2) Fluoxetina (n=4) recebeu 10 mg/kg de fluoxetina (s.c). Ambos os tratamentos foram aplicados durante 21 pós-natais. Aos 60 dias de idade os animais foram perfundidos com salina e paraformoldeído (4%) em seguida os encéfalos foram retirados, pós-fixados, crioprotetidos e cortados com uma espessura de 40 µm. Os cortes foram submetidos à imunohistoquímica para 5-HT e montados em lâminas gelatinizadas. Os neurônios 5-HT imuno-reativos (IR) do DR foram contados em um microscópio (Nikon Eclipse E1000) acoplado a um computador com software específico para avaliações morfológicas (Image Pro-Plus). Os resultados demonstraram que o número de neurônios 5-HT-IR não diferiu significativamente entre os grupos: Controle (1064 ± 88) e Fluoxetina (776 ± 135). Os dados estão expressos como média ± erro padrão. Foi realizado o *student t test* conforme o software SigmaStat com nível de significância de  $p < 0,05$ .

**Conclusões:**

A manipulação farmacológica com a fluoxetina durante a lactação, ao que parece não foi suficiente para promover alterações significantes no número de neurônios 5-HT no DR.

02.039

**REATIVIDADE GLIAL E RETRAÇÃO SINÁPTICA EM MOTONEURÔNIOS ALFA DE ANIMAIS SUBMETIDOS A ENCEFALOMIELITE AUTOIMUNE EXPERIMENTAL (EAE).** <sup>1</sup>Pereira, K. B.; <sup>2</sup>Santos, L. M.; <sup>1</sup>Oliveira, A. L. R.; <sup>1</sup>Anatomia UNICAMP; <sup>2</sup>Microbiologia e Imunologia, UNICAMP

**Objetivo:**

A Esclerose Múltipla é uma doença autoimune que leva a perdas importantes das funções motora e sensitiva. Apesar desses eventos serem atribuídos ao processo desmielinizante, há evidências de que a retração sináptica decorrente da inflamação local também contribua para os sinais clínicos observados. Assim sendo, investigamos as alterações sinaptológicas e o processo inflamatório induzidos pela EAE em motoneurônios medulares e sua relação com o surto e remissão da doença.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Lewis, fêmeas de 7 semanas, foram submetidos a EAE por meio de dose única de proteína básica de mielina emulsificada com adjuvante completo de Freund. Animais normais serviram como controle. O primeiro grupo experimental foi sacrificado no 13º dia após indução, quando se identificou paralisia total dos membros posteriores e parcial dos anteriores (surto), e o segundo, no 26º dia, uma semana após o desaparecimento dos sinais clínicos da doença (remissão). Os espécimes foram processados para análise através de imunohistoquímica e microscopia eletrônica de transmissão (MET). Os resultados obtidos através da imunomarcagem para GFAP e F4/80 mostraram uma grande elevação, respectivamente, da resposta astrogliar e microglial durante o período de surto da doença. Durante a remissão, ocorreu uma redução dessas respostas. Através da MET, verificou-se a retração de 40% das aferências durante o surto, sendo as excitatórias as mais afetadas. Esta redução da cobertura sináptica também pôde ser visualizada através da imunomarcagem para sinaptofisina.

**Conclusões:**

Nossos resultados indicam que os componentes gliais (astrócitos e microglia), estimulados pela inflamação, desempenham papel ativo no processo de retração sináptica em motoneurônios alfa. Assim, apresentamos evidências de que a eliminação de terminais sinápticos contribui para a perda da função motora observada no curso da doença.

02.040

COMPARAÇÃO TOPOGRÁFICA DOS CONES S NAS RETINAS DE *NASUA NASUA* (QUATI) E *TAYASSU TAJACU* (CAITITU). <sup>1</sup>Malheiros, E. S.; <sup>2</sup> Vieira-da-Silva, TT. G.\*; <sup>3</sup> Lima, S. M. A. Fisiologia CCB-UFPA

**Objetivo:**

Neste trabalho analisamos e comparamos a distribuição topográfica dos cones S nas retinas de quati e caititu.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos animais adultos das duas espécies, *Nasua nasua* e *Tayassu tajacu*, fixados com paraformaldeído 4% em tampão fosfato 0.1M e realizamos imunocitoquímica com anticorpo JH-455 para marcar e quantificar os cones S das retinas destes animais. O procedimento imunocitoquímico foi realizado em montagens planas de retina utilizando-se o método de extravidina-biotina-peroxidase para visualização em microscópio óptico. Nas montagens planas, a densidade dos cones S foi avaliada a partir de contagens sucessivas em intervalos regulares de 1mm<sup>2</sup> por toda retina. A análise topográfica demonstrou que os cones S formam uma *area centralis* com um discreto pico celular (125 cones/mm<sup>2</sup>) na retina do quati (*Nasua nasua*), enquanto que, na retina de caititu (*Tayassu tajacu*) os cones S formam um pico de densidade no quadrante dorso-temporal (125 cones/mm<sup>2</sup>). A topografia dos cones S na retina desses dois animais é diferenciada no eixo dorso-ventral. Na retina do quati, a densidade dos cones S decai homoganeamente para a periferia da retina, atingindo valores próximos a 40 cones/mm<sup>2</sup>. No caititu, entretanto, o decaimento mostrou-se abrupto, os valores máximos encontrados no quadrante dorso-temporal decaem em direção ao quadrante ventral para valores inferiores a 20 cones/mm<sup>2</sup>.

**Conclusões:**

Nossos resultados mostraram que as diferenças encontradas na topografia dos cones S podem estar relacionadas ao comportamento alimentar. Uma vez que o quati é um animal arborícola e alimenta-se através da caça de pequenos mamíferos, além de fuçar o solo, necessitando de uma *area centralis*, visão binocular. Enquanto o caititu vive restrito ao solo e para obter seu alimento fuça o solo, o que explicaria a grande densidade de cones S localizada na região dorso-temporal da retina deste animal, responsável pela visão ventral do campo visual.

02.041

DISPERSÃO E BILAMINAÇÃO DO GIRO DENTEADO: DUAS ENTIDADES PATOLÓGICAS DISTINTAS. <sup>1</sup>Silva, A. V.; <sup>2</sup>Houzel, J. C.; <sup>3</sup> Stavale, J. N.; <sup>1</sup>Centeno, R. S.; <sup>1</sup>Cavalheiro, E. A.; <sup>1</sup>Neurologia e Neurocirurgia UNIFESP; <sup>2</sup>Anatomia UFRJ; <sup>3</sup>Patologia UNIFESP

**Objetivo:**

Na esclerose hipocampal associada à epilepsia refratária, as modificações da citoarquitetura do giro denteado estão entre as alterações mais evidentes. Entretanto existe certa controvérsia quanto à classificação e a natureza dessas lesões. No presente trabalho, procuramos caracterizar a citoarquitetura das células granulares em casos de esclerose hipocampal comparando regiões de bilaminação, regiões de dispersão, regiões de perda celular e regiões com aspecto normal.

**Métodos e Resultados:**

Foram analisadas as características de 2.577 células granulares, em fatias histológicas de cinquenta micrômetros coradas com violeta de cresila e/ou imunomarcadas com NeuN. Os parâmetros analisados incluíram o perímetro do corpo celular (P), a área somática (A) e a forma da célula (F), calculada através da relação entre os comprimentos do maior e do menor eixo somático. A análise estatística foi realizada através do teste de Kruskal-Wallis e do teste de comparações múltiplas de Dunn. As células granulares apresentaram as seguintes características: (1) regiões de aspecto normal (n=457): P=51,8 ± 9,7  $\mu$ m, A=291 ± 260  $\mu$ m<sup>2</sup>, F=0,71 ± 0,13; (2) regiões de bilaminação (n=936): P=51,0 ± 10  $\mu$ m, A=249,1 ± 219  $\mu$ m<sup>2</sup>, F=0,76 ± 0,13; (3) regiões de perda celular (279): P=52,7 ± 10  $\mu$ m, A=263 ± 279  $\mu$ m<sup>2</sup>, F=0,71 ± 0,14; (4) regiões de dispersão (n=905): P=49,7 ± 9,7  $\mu$ m, A=345,4 ± 317  $\mu$ m<sup>2</sup>, F=0,65 ± 0,13. Foi observada uma diferença extremamente significativa (p<0,0001) entre as regiões estudadas, exceto quanto à área somática total (p=0,222). As células granulares das áreas de dispersão diferiram das regiões de aspecto normal quanto ao tamanho (P) e à forma (F) (p<0,001). As células granulares das áreas de bilaminação assemelharam-se às áreas normais quanto ao tamanho, mas diferiram quanto à forma (p<0,001). As regiões de dispersão e bilaminação diferiram entre si quanto ao

tamanho ( $p < 0,05$ ) e à forma ( $p < 0,001$ ) das células granulares. As células granulares das regiões de perda celular apresentam morfologia semelhante àquelas observadas em áreas preservadas.

**Conclusões:**

Nas áreas de dispersão, as células granulares são menores e mais alongadas quando comparadas às áreas de aspecto normal. Por outro lado, as células das áreas de bilaminação apresentam uma morfologia mais arredondada, com dimensões semelhantes à camada granular normal. Assim, nossos resultados fundamentam, pela primeira vez, o conceito de que a dispersão das células granulares e a bilaminação do giro denteado são entidades patológicas distintas.

02.042

DESENVOLVIMENTO DA ÁREA E PERÍMETRO CARDÍACOS EM RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PRECOCE. <sup>1</sup>Toscano, A.E.; <sup>1</sup>Leite, R. M. P.; <sup>1</sup>Lima, E.\*; <sup>1</sup>Lima-Dornelas, E. S. O.\*; <sup>1</sup>Diniz Barros, J.\*; <sup>1</sup>Perazzo-Leite, M.\*; <sup>1</sup>Ferreira, L. M. P.; <sup>2</sup>Paz, S.; <sup>2</sup>Moraes, S. R. A. <sup>1</sup>Manhães-de-Castro, R. <sup>1</sup>Nutrição UFPE; <sup>2</sup>Anatomia Patológica UFPE

**Objetivo:**

O efeito da desnutrição durante a lactação foi investigado sobre a área de secção transversa e sobre o perímetro transversal do coração de ratos aos 30 e 71 dias.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar machos neonatos foram divididos em dois grupos: 1) Grupo Desnutrido (GD; n=21), ratos que tiveram suas mães submetidas a dieta com 7,8% de proteína e 2) Grupo Nutrido (GN; n=17) que receberam a dieta controle com 23% de proteína durante a amamentação. Após o desmame, todos os animais receberam dieta controle e água *ad libitum*. Aos 30 e 71 dias de vida, o coração foi retirado e realizado um corte transversal no ponto médio da distância entre o sulco atrioventricular e o ápice do coração. A partir desse ponto, foram realizados cortes histológicos transversais do coração, corados pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) para mensuração da área de secção transversa e do perímetro transversal do coração. Comparados (teste "t" Student) aos do Grupo Nutrido (GN), os animais do Grupo Desnutrido (GD) apresentaram uma redução na área de secção transversa do coração ( $p < 0,05$ ) aos 30 dias ( $GD = 95,48 \text{ mm}^2 \pm 1,95$ , n=10 e  $GN = 114,09 \text{ mm}^2 \pm 3,62$ , n=9) e aos 71 dias de vida ( $GD = 157,31 \text{ mm}^2 \pm 7,62$ , n=11 e  $GN = 191,47 \text{ mm}^2 \pm 6,98$ , n=8) e uma diminuição do perímetro transversal do coração ( $p < 0,05$ ) aos 71 dias de vida ( $GD = 100,13 \text{ mm} \pm 4,80$ , n=11 e  $GN = 125,25 \text{ mm} \pm 5,55$ , n=8).

**Conclusões:**

A desnutrição durante o período de aleitamento promove alterações morfológicas precoces e tardias no coração. Evidências sugerem que a desnutrição pode diminuir a espessura das paredes cardíacas o que pode reduzir as dimensões do coração.

02.043

AUSÊNCIA DE ÓXIDO NÍTRICO ALTERA RESPOSTA DAS CÉLULAS DE SCHWANN TERMINAIS APÓS LESÃO NERVOSA. Pereira, E. C. L.; Minatel, E.; Santo-Neto, H.; Marques, M. J. Anatomia UNICAMP

**Objetivo:**

O objetivo do presente trabalho foi estudar as respostas dos terminais nervosos e das células de Schwann terminais após lesão nervosa, na ausência de óxido nítrico (NO).

**Métodos e Resultados:**

O nervo do músculo esternomastóide esquerdo de camundongos C57BL/10 (n=20) sofreu uma lesão por esmagamento para indução de brotamentos dos terminais nervosos e das células de Schwann terminais. Os animais foram divididos em dois grupos, um tratado com L-NAME e outro não tratado. As análises foram feitas em microscopia de fluorescência confocal após imunomarcagem dos terminais nervosos com anti-neurofilamento e das células de Schwann terminais com anti-S-100. Nove dias após a lesão nervosa, 24% das junções controle (n=200) apresentaram brotamentos ultraterminais. Na ausência de NO, o mesmo foi observado em 28.5% das junções (n=217;  $p > 0,05$  comparado ao controle;  $\chi^2$ ). Quatorze dias após a lesão nervosa, todas as células de Schwann terminais observadas (n=100 junções) formaram uma rede de processos citoplasmáticos, que se estendiam para fora do sítio sináptico. Em ausência do NO, os

processos das células de Schwann terminais se limitavam a região juncional, na maioria das junções observadas (n=124).

**Conclusões:**

Nossos resultados mostram que o NO está envolvido na resposta das células de Schwann terminais à lesão nervosa. Considerando que músculos distróficos apresentam diminuição da óxido nítrico sintase neuronal, é possível que a sinalização molecular entre os componentes pré-sinápticos da junção neuromuscular distrófica esteja prejudicada. Isto poderia influenciar a formação e manutenção de sinapses nas novas fibras musculares obtidas por terapias celulares.

02.044

INFLUÊNCIA DO NERVO NA DISTRIBUIÇÃO DOS RECEPTORES DE ACETILCOLINA NA JUNÇÃO NEUROMUSCULAR DISTRÓFICA. Taniguti A. P. T.<sup>\*\*</sup>; Minatel, E.; Santo-Neto, H.; Marques, M. J. Anatomia UNICAMP

**Objetivo:**

A Distrofia Muscular de Duchenne (DMD) é uma miopatia hereditária caracterizada pela falta de distrofina na membrana sarcoplasmática. Camundongos da linhagem *mdx*, tal como pacientes com DMD, não expressam a distrofina, desenvolvendo assim distrofia muscular semelhante a DMD. Uma das características da fibra muscular distrófica é a alteração do padrão de distribuição dos receptores de acetilcolina (AChRs), provavelmente devida à falta de distrofina ou do seu complexo de proteínas. Estudos com microscopia confocal demonstraram que alterações semelhantes também ocorrem em fibras musculares normais regeneradas e que o terminal nervoso tem papel determinante nas alterações da distribuição dos AChRs nestas fibras. O presente trabalho tem por objetivo verificar se o terminal nervoso também determina o padrão de distribuição dos AChRs nas fibras musculares regeneradas distróficas.

**Métodos e Resultados:**

Animais *mdx* com 06 meses de idade tiveram o músculo esternomastóideo esquerdo desnervado e injetado com cloridrato de lidocaína, para indução de regeneração muscular. O músculo contralateral serviu como controle. Após 10 dias, os animais foram sacrificados, os AChRs marcados com rodamina- $\alpha$ -bungarotoxina e observados ao microscópio confocal. Na maioria das junções distróficas (98%; n=100), os AChRs se distribuem em aglomerados ou ilhas, que apresentam uma área central escura. Este padrão não foi observado na maioria das junções distróficas desnervadas estudadas até o momento (67%, n=40).

**Conclusões:**

Estes resultados sugerem que o terminal nervoso contribui de forma significativa para as alterações no padrão de distribuição dos AChRs nas fibras musculares distróficas.

02.045

COMPARAÇÃO DA TOPOGRAFIA DE CONES EM ANIMAIS DIURNOS E NOTURNOS. <sup>1</sup>Bastos da Silva, A. C.\*; <sup>2</sup>Rocha, F.A.F.; <sup>1</sup>Lima, S. M. A. <sup>1</sup> Departamento de Fisiologia, Universidade Federal do Pará; <sup>2</sup>Fisiologia UFPA / IP-USP

**Objetivo:**

Comparação entre a distribuição dos diferentes tipos de cones na retina de dois roedores da família Cavoidea: a cutia (*Dasyprocta aguti*) e a paca (*Cuniculus paca*), que além de serem próximos filogeneticamente, apresentam ciclos de atividades em períodos distintos, diurno e noturno, respectivamente.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos a técnica de imunocitoquímica com anticorpos policlonais específicos para opsinas contidas nos cones S e M/L (JH-455 e JH-492) em montagens aplanadas na retina da paca, os dados referentes à retina da cutia foram coletados de trabalho anterior realizado por nosso grupo (ARVO, 1949: 81 2001). O anticorpo JH-455 reconheceu tanto na cutia como na paca, a população de cones S. Número e distribuição dos cones S na retina apresentou-se, entretanto, diferenciada. Na retina da cutia, a maior densidade ocorreu na região da faixa visual 1.497 cones/mm<sup>2</sup> que se estende para a região ventral, na paca, os cones S apresentaram densidade máxima de 800 cones/mm<sup>2</sup> restrita a região ventral da retina. O anticorpo JH-492 reconheceu a população de cones M/L nos dois animais. Na cutia observou-se a formação de uma faixa visual com um pico



densidade em torno de 14.000 cones/mm<sup>2</sup>, além de uma assimetria dorsal-nasal com maior densidade da região ventral. Não observamos a formação de uma faixa visual na retina da paca, por outro lado cones M/L tiveram em maior concentração (5.000 cones/mm<sup>2</sup>) na região dorsal da retina.

**Conclusões:**

Apesar de estarem proximamente relacionados flogeneticamente notamos diferenças significativas tanto na quantificação quanto na distribuição topográfica dos cones entre os animais estudados, o que pode refletir as diferenças nas estratégias comportamentais de cada espécie. O que ressalta a importância do estudo no sistema visual mais aprofundado desses animais.

02.046

ATIVIDADE FÍSICA E NEUROPROTEÇÃO EM CAMUNDONGOS APÓS INDUÇÃO DE *STATUS EPILEPTICUS* POR PILOCARPINA. <sup>1</sup>Sartori, C. R.\*\*; <sup>1</sup>Pelagio, F. C.\*\*; <sup>1</sup>Nascimento, A. L.\*\*; <sup>1</sup>Ferrari, E. A. M.; <sup>2</sup>Valentinuzzi, V. S.; <sup>9</sup>Langone, F. Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP; <sup>2</sup>Fisiologia UFRN

**Objetivo:**

Indução de *status epilepticus* (SE) por pilocarpina (PIL) provoca lesão na formação hipocampal (FH). Atividade física tem sido associada a neuroproteção. Investigamos o efeito da atividade física realizada por camundongos após SE sobre sua memória espacial e a lesão produzida na FH.

**Métodos e Resultados:**

Camundongos Swiss adultos foram divididos em 4 grupos: Epiléptico Sedentário (ES) e Corredor (EC), Saudável Sedentário (SS) e Corredor (SC). O SE foi induzido nos animais ES e EC pela administração de PIL (340mg/kg; i.p.). Os animais SS e SC receberam solução salina (i.p.). Dois dias após o SE os animais EC permaneceram durante 4 semanas em gaiolas individuais com acesso à roda de atividade. Os animais SC ficaram no mesmo tipo de gaiola pelo mesmo tempo. Os demais foram mantidos em gaiolas padrão individuais. Após esse período todos os animais foram testados no labirinto aquático de Morris (WM) para avaliação da memória espacial e sacrificados para análise histológica. Cortes frontais da FH corados com violeta de cresila, ou reagidos com Fluoro Jade B ou anticorpo anti-PCNA foram utilizados para avaliação da lesão tecidual, degeneração neuronal e proliferação celular, respectivamente. O teste no WM revelou um desempenho significativamente melhor dos animais EC comparados aos ES (p<0,05), enquanto os SS e SC não diferiram entre si, mas foram melhores que EC e ES (p<0,05). Animais ES e EC não diferiram entre si quanto à lesão tecidual e degeneração neuronal. Contudo, os animais ES apresentaram maior proliferação celular comparados aos EC (p<0,05). Animais SS e SC não apresentaram lesão tecidual ou degeneração neuronal e a proliferação celular foi semelhante em ambos.

**Conclusões:**

A atividade física espontânea após SE contribuiu positivamente na preservação da memória espacial dos camundongos. Tal efeito parece estar associado a fenômenos de plasticidade neural cuja investigação está em curso.

02.047

ENVOLVIMENTO DOS NÚCLEOS DA RAFE NO COMPORTAMENTO ALIMENTAR: ABORDAGEM EM RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO ALIMENTAR. Takase, L. F.; Nogueira, M. I. Anatomia ICB III-USP

**Objetivo:**

Este estudo tem como objetivo um melhor entendimento da cinética de ativação do complexo circuito neural envolvido no comportamento alimentar de animais submetidos ao sistema de restrição alimentar, e analisar a participação de neurônios serotoninérgicos, dopaminérgicos e noradrenérgicos na ingestão de alimentos.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados ratos Wistar mantidos em biotério com condições controladas. Primeiramente, os animais foram submetidos à restrição alimentar, em que o alimento era oferecido por apenas 2 horas/dia, das 7:30 às 9:30 h, durante o período de 15 dias. Após este período, os animais foram submetidos a um esímuo alimentar (30 minutos de alimentação) e perfundidos após 0, 15, 30, 60, 90, 120, 180 e 240 minutos após o final do estímulo. Os animais foram processados com técnicas

de imunohistoquímica contra a proteína Fos e com técnicas de dupla-marcação. A análise da densidade de neurônios Fos+ evidenciou que núcleos relacionados com a saciedade, como o DR e MnR, tiveram maior marcação após 180 minutos da ingesta; enquanto que núcleos relacionados com funções motoras e autônomas do comportamento alimentar, tiveram maior ativação após 120 minutos do estímulo alimentar. A análise da dupla-marcação mostrou uma pequena participação de neurônios serotoninérgicos, noradrenérgicos e dopaminérgicos na ingesta de alimentos tanto em ratos quanto em gatos.

**Conclusões:**

Estes dados evidenciam uma participação diferenciada anatômica e temporal dos núcleos da rafe nas diferentes fases do comportamento alimentar.

02.048

A GTPASE RAC1 ESTÁ ENVOLVIDA NA DEGENERAÇÃO DE FOTORRECEPTORES INDUZIDA POR LUZ EM CAMUNDONGOS. Belmonte, M. A.; Santos, M. F. ; Hamassaki-Britto, E.; *Biologia Celular e do Desenvolvimento USP*

**Objetivo:**

Investigar a participação de GTPases pertencentes à família Rho, que também têm sido relacionadas à regulação da apoptose, durante a degeneração de fotorreceptores induzida por luz em camundongos.

**Métodos e Resultados:**

A degeneração retiniana foi induzida por luz branca (5000 lux, 2 horas) em camundongos albinos (Balb/c) adultos. Animais controle foram sacrificados em diferentes períodos do ciclo claro-escuro e após serem mantidos previamente no escuro (E – 18 horas). Após o estímulo luminoso, os animais foram sacrificados imediatamente (L2) ou após 6 (L2E6), 24 (L2E24) e 48 horas (L2E48). Os olhos enucleados e fixados em paraformaldeído a 2% foram crioprotetidos e a retina cortada transversalmente em criostato e processada para imunofluorescência com anticorpos contra Rac1, p-Rac1 (forma inativada) e PAK3. A atividade dessa GTPase também foi medida nos animais estimulados usando o método de *pull-down*. Nossos dados mostraram que a GTPase Rac1 e seu efetor PAK3 estão localizados nos fotorreceptores da retina dos animais adaptados à luz, especialmente nos segmentos interno e externo desses neurônios. A distribuição e a expressão dessas proteínas foi similar nos diversos períodos investigados. Dados prévios do laboratório já demonstraram que a expressão de Rac1 está aumentada nos fotorreceptores TUNEL-positivos na retina estimulada por luz. Esse aumento foi acompanhado pela maior ativação de Rac1 no início do processo degenerativo (L2), em relação ao grupo controle, e permanece elevada mesmo após 24 horas do estímulo. A maior participação dessa GTPase nos períodos iniciais da degeneração retiniana é seguida da inativação da mesma, através da sua fosforilação, após 2 dias do estímulo luminoso.

**Conclusões:**

Nesse estudo, sugerimos que Rac1 tem um papel importante na morte celular de fotorreceptores induzida e que sua inativação por fosforilação poderia ser um mecanismo protetor contra o estresse oxidativo causado pela luz.

02.049

EFEITO DA TRANSECÇÃO NEONATAL DO CORPO CALOSO NA DENSIDADE NEURONAL NEOCORTICAL DE CAMUNDONGOS SUÍÇOS ADULTOS. Ribeiro-Carvalho, A.; Manhães, A. C.; Filgueiras, C. C. *Ciências Fisiológicas UERJ*

**Objetivo:**

Tem sido sugerido que presença de aferentes calosos durante o desenvolvimento influencia o estabelecimento da estrutura neocortical. Em acordo com esta idéia, demonstramos que a transecção do corpo caloso (CC) no primeiro dia pós-natal reduz a espessura neocortical de camundongos Suíços adultos em áreas com alta aferência calosa. No presente trabalho, objetivamos avaliar se a densidade neuronal é também afetada pela eliminação cirúrgica do CC no 1º dia de vida pós-natal.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos 3 machos e 4 fêmeas que tiveram o CC transeccionado no 1º dia de vida pós-natal

(Grupo Acaloso) e 4 machos e 4 fêmeas que não foram manipulados do nascimento ao desmame (Grupo Normal). Na idade adulta, os animais tiveram seus cérebros dissecados, cortados por congelamento no plano coronal (espessura = 40 µm) e corados pelo método de Nissl. A medida de densidade neuronal foi avaliada pelo método do disector óptico nas camadas neocorticais II+III, IV, V e VI em regiões do cérebro com maciça projeção calosa (área 6 e borda entre as áreas 17 e 18a) e em uma área pobre em aferentes calosos (área 17). Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os grupos Acaloso e Normal.

**Conclusões:**

A redução da espessura neocortical associada com a ausência de alteração na densidade neuronal em áreas que normalmente apresentariam alta aferência calosa sugere que a transecção neonatal do corpo caloso promove diminuição do número de neurônios no neocórtex. Desta forma, este trabalho corrobora a hipótese de que a presença dos aferentes calosos durante o desenvolvimento influencia o estabelecimento da estrutura neocortical.

02.050

INTERAÇÃO ASPARTATO-GLUTAMATO NA RETINA DE PINTO *IN VIVO*. <sup>1</sup>Figueiredo, R. G.\*; <sup>2</sup>Gardino, P. F.; <sup>2</sup>de Mello, F. G.; <sup>1</sup>Calaza, K. C. <sup>1</sup>Neurobiologia UFF; <sup>2</sup>Neurobiologia IBCCF-UFRJ

**Objetivo:**

Aspartato e glutamato são aminoácidos excitatórios presentes na retina de vertebrados. O glutamato é o neurotransmissor da via radial que transmite a informação dos fotorreceptores às células ganglionares. Trabalhos recentes apontam o aspartato como um agente de ação intraretiniana. Neste trabalho estudamos a presença de células com aspartato em retinas de embrião de pinto estimuladas por glutamato utilizando como modelo preparações de retina intacta.

**Métodos e Resultados:**

Retinas de embriões de 14 dias (E14) de *Gallus domesticus* foram incubadas com glutamato (2mM) por 20 minutos (n=2), com trocas a cada 5 minutos, e fixadas, a seguir com PA 4%. Usando imunocitoquímica para aspartato analisamos células amácrinas, horizontais e células da camada de células ganglionares (CCG) marcadas (Asp+), em retinas estimuladas com glutamato ou com glutamato mais antagonistas glutamatérgicos (DNQX-100µM e MK801-10µM). Numa análise qualitativa observamos um aumento de células Asp+ na CCG e das amácrinas e horizontais Asp+. Quando estas células Asp+ foram quantificadas verificamos um aumento significativo (p<0,05) e do número de células Asp+, variando de 200% a 400% do controle (100%). O tratamento com os antagonistas bloqueou o efeito de glutamato em todos os tipos celulares observados sugerindo uma ação dependente dos receptores ionotrópicos.

**Conclusões:**

Nossos dados sugerem que o sistema glutamatérgico seja capaz de interferir com o equilíbrio dinâmico do aspartato celular através da ativação de receptores ionotrópicos.

02.051

ESTUDO NEUROMORFOLÓGICO DO DUPLO ELO GABAÉRGICO ESTRIADO-NIGRO-TECTAL. <sup>1</sup>Baldan, L. C.; <sup>2</sup>Coimbra, N. C. <sup>1</sup>Neurologia FMRP-USP; <sup>2</sup>Farmacologia FMRP-USP

**Objetivo:**

A substância negra, parte reticulada (SNpr) rica em neurônios GABAérgicos, recebe aferências também GABAérgicas provenientes do corpo estriado e se projeta para o mesencéfalo dorsal, mais cranialmente, modulando o substrato neural responsável pelo processamento dos comportamentos defensivos e do medo no colículo superior e na substância cinzenta periaquedutal dorsal.

O objetivo deste trabalho foi investigar se essas conexões GABAérgicas estriado-nigro-TECTAIS também se estendem ao substrato neural responsável pela organização dos comportamentos defensivos e do medo no colículo inferior de ratos.

**Métodos e Resultados:**

As vias foram traçadas com o neurotraçador fluorescente “fast blue”, de captação e transporte retrógrado e com o neurotraçador fluorescente bidirecional Texas Red-conjugado com amina, microinjetados na SNpr de ratos Wistar machos, pesando de 250 a 300g.

O neurotraçamento retrógrado mostrou células neuronais e seus prolongamentos localizadas no caudado-*putamen*, no globo pálido em suas porções mediais e laterais e nos aspectos dorsais e

ventrais dos núcleos subtalâmicos. Corpos celulares neuroniais e fibras axônicas foram observadas no caudado-*putamen*, após as microinjeções do neurotraçador bidirecional Texas Red-conjugado com amina dextran na SNpr, corroborando, desta forma, as projeções provenientes do estriado e que se destinam à substância negra, parte reticulada. Este procedimento também foi seguido por fibras positivas para biodextran nos núcleos pericentral e central do colículo inferior, demonstrando assim a existência da via estriado-nigro-tectal, a qual se destina também para sítios caudais do mesencéfalo dorsal.

**Conclusões:**

As técnicas neuroanatômicas apresentaram novas evidências da via nigro-colicular, a qual conecta a parte reticulada da substância negra, rica em GABA, aos núcleos pericentral e central do colículo inferior.

02.052

ESTUDO RADIOGRÁFICO CRÂNIO-ENCEFÁLICO DO ROEDOR *PROECHIMYS GUIANNENSIS*, UMA ESPÉCIE RESISTENTE À EPILEPSIA. Silva, A. V.; Jansons, J. S.<sup>\*\*</sup>; Croaro, I.; Cavalheiro E. A. Neurologia e Neurocirurgia UNIFESP

**Objetivo:**

Estudos recentes têm demonstrado que o roedor *Proechimys guianensis* (PG) é resistente aos modelos clássicos de epilepsia. O objetivo deste trabalho é estudar as características anatômicas cranianas do PG através de estudo radiográfico, comparando-o ao rato Wistar (RW).

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados 3 RWs e 3 PGs adultos jovens. Os animais foram anestesiados, perfundidos com paraformol a 4% e decapitados. O crânio foi emblocado em gelatina incolor e foi utilizada a sua superfície superior como apoio para o posicionamento. Foram feitas tomadas radiográficas com aparelho de RX marca Funk, 60 Kvp, com tempo de exposição de 1 segundo e distância de 10 centímetros, nos sentidos latero-lateral e ventro-dorsal. As películas foram reveladas, fixadas e digitalizadas. O programa Image Tool (Universidade do Texas, free wear) foi utilizado para a aferição de medidas craniométricas nos eixos rostro-caudal, latero-lateral e ventro-dorsal, além das distâncias: bregma/limite caudal do crânio, lambda/limite caudal do crânio e bregma/lambda. Observamos uma diferença evidente na morfometria craniana entre as duas espécies. Em relação ao RW, o PG apresenta um encéfalo de dimensões maiores, particularmente nos eixos latero-lateral e dorso-ventral.

**Conclusões:**

Considerando a relevância do PG no estudo dos mecanismos básicos de epileptogênese, fica evidente a necessidade de um atlas estereotáxico específico para essa espécie.

02.053

DISTRIBUIÇÃO DAS GTPASES RHO NA MARGEM RETINIANA E CORPO CILIAR DE CAMUNDONGOS DEGENERADOS POR LUZ. Debbio, C. B. ; Santos, M. F.; Hamassaki-Britto, E. Biologia Celular e do Desenvolvimento USP

**Objetivo:**

A margem periférica retiniana (MR) e o corpo ciliar (CC) contêm progenitores retinianos em diversas espécies, sendo portanto relacionados ao possível potencial regenerativo da retina. O objetivo deste trabalho foi avaliar a distribuição das GTPases Rho, proteínas com reconhecida importância na diferenciação neuronal e na proliferação celular, antes e durante a indução de degeneração retiniana.

**Métodos e Resultados:**

Após 18 h no escuro, camundongos albinos (Balb/c) adultos foram submetidos a estímulo luminoso intenso (5000 lux) por 2 h para a indução de degeneração e sacrificados em tempos diferentes (24, 48 e 72 h, 15 e 30 dias pós-estímulo). Os animais controle permaneceram em ciclo claro-escuro de 12 h. Após anestesia e perfusão (salina 0,9% e paraformaldeído 2%), seus olhos foram enucleados, crioprotetidos e cortados transversalmente em criostato para experimentos de imunofluorescência com os anticorpos contra RhoA, RhoB, Rac1 e Cdc42 (1:50, Santa Cruz). Rac1 e Cdc42 foram expressas nas camadas plexiformes e nucleares, mas principalmente nos segmentos dos fotorreceptores e de forma difusa nos epitélios pigmentado e não pigmentado da pars plana e pars plicata do CC. RhoA foi observada nos pericários de fotorreceptores e seus

segmentos, na camada nuclear interna e fracamente expresso no CC. Finalmente, uma forte marcação foi vista para anti-Rho B em células de Muller e pars plana do CC.

**Conclusões:**

Todas as GTPases investigadas foram detectadas no corpo ciliar e na retina, não havendo diferenças entre a região central e a periférica. Exceto pelo aumento evidente de fotorreceptores Rac1-positivos na retina central, outras alterações não foram observadas no padrão de marcação após o estímulo degenerativo.

02.054

REATIVIDADE DA ENZIMA NADPH DIAFORASE NO ISOCÓRTEX DA PACA (*CUNICULUS PACA*)<sup>1</sup>Freire, M. A. M.;<sup>1</sup>Picanço-Diniz, C. W.;<sup>2</sup>Franca, J.G.;<sup>3</sup>Pereira Jr., A.;<sup>1</sup>Morfologia UFPA;<sup>2</sup>IBCCF-UFRJ;<sup>3</sup>Fisiologia UFPA

**Objetivo:**

Descrever o padrão de distribuição da enzima NADPH diaforase (NADPH-d) em secções tangenciais do isocórtex da paca (*Cuniculus paca*), buscando compará-lo com aquele já descrito em outros mamíferos (Brain Res. 864; 163, 2000).

**Métodos e Resultados:**

Duas pacas adultas foram anestesiadas com pentobarbital sódico (90 mg/kg) (i.p.) e perfundidas com solução salina a 0,9% e paraformaldeído a 4%. Os hemisférios cerebrais foram seccionados tangencialmente e processados para a revelação da atividade enzimática da NADPH-d pelo método indireto (J. Neurosci. Meth. 9; 229, 1983). A distribuição da NADPH-d foi heterogênea ao longo da camada IV do isocórtex, evidenciando regiões de maior reatividade que, por homologia ao observado em outras espécies, devem corresponder às áreas primárias somestésica (SI), auditiva (AI) e visual (VI). Em SI a NADPH-d evidencia uma representação completa do corpo, incluindo módulos corticais homólogos ao campo de barris de roedores de pequeno porte. Adicionalmente, dois subgrupos de neurônios reativos para NADPH-d foram observados ao longo do isocórtex: neurônios do tipo I (maiores e mais fortemente reativos) e neurônios do tipo II (menores e mais fracamente reativos). Os neurônios do tipo I distribuem-se de maneira heterogênea ao longo das camadas supragranulares, concentrando-se nas regiões anterior e lateral. Tal segregação não é observada nas camadas infragranulares.

**Conclusões:**

A distribuição de neurônios do tipo I e o padrão de módulos corticais e áreas sensoriais primárias revelados pela NADPH-d no isocórtex da paca é semelhante ao observado em outros mamíferos. Diferente de sugestões anteriores (J. Comp. Neurol. 164; 79, 1975), a presença de barris nesta espécie demonstra que este tipo de organização modular também é encontrado em roedores de médio porte, que possuem cérebros maiores.

02.055

CÉLULAS HORIZONTAIS CLASSE A DA CAPIVARA: RELAÇÃO ESPACIAL ENTRE OS MOSAICOS DE CÉLULAS TÓPICAS E DESLOCADAS AVALIADA COM PROCEDIMENTOS DE ESTATÍSTICA ESPACIAL. Saito, C. A.; Yamada, E. S.; de Lima, S. M. A.; Silveira, L. C. L.; Fisiologia CGB-UFPA

**Objetivo:**

Foram utilizados métodos da estatística espacial para analisar a relação entre os mosaicos de células horizontais da classe A, tópicas e deslocadas, na retina periférica da capivara, um roedor histicomorfo de hábito crepuscular contendo uma especialização retiniana do tipo faixa visual (*visual streak*). A capivara é um animal interessante para esse estudo, pois as células horizontais deslocadas são encontradas em maior densidade do que em todos os demais mamíferos estudados até o presente.

**Métodos e Resultados:**

As células horizontais foram coradas pelo método de Gros-Schultze em montagens planas de retina da capivara, *Hydrochoerus hydrochaeris*. Foram estudados 3 campos, de localização dorsal, central e ventral na retina, contendo 48, 113 e 54 células horizontais A tópicas, respectivamente. Em um campo dorsal mais periférico, tanto as células tópicas quanto as deslocadas foram analisadas. Foram calculados o índice de regularidade (IR) pela distância do vizinho mais próximo,

o fator de empacotamento (FE) pelo perfil de recuperação de densidade e as funções monovariadas e bivariadas K de Ripley. Os resultados indicam que as células horizontais A típicas formam mosaicos espacialmente regulares ( $3,5 < IR < 4,9$ ;  $0,3 < FE < 0,5$ ) e que diferem estatisticamente de mosaicos aleatórios de mesma densidade pela função monovariada K de Ripley ( $P < 0,05$ ), sendo o mosaico da região dorsal mais regular que os demais. A inclusão de células horizontais deslocadas diminui a regularidade espacial, tornando o mosaico mais aleatório: o IR diminui de 4,4 para 2,9; o FE diminui de 0,47 para 0,25. A função bivariada K de Ripley para testar se as células típicas e deslocadas são espacialmente independentes não foi significativo ( $P > 0,05$ ).

**Conclusões:**

Na capivara, assim como em outros vertebrados, as células horizontais tipo A formam um mosaico espacialmente regular. A diminuição da regularidade espacial do mosaico de células horizontais tipo A, quando as deslocadas são inseridas, sugere que ambas formam populações espacialmente independentes.

02.056

O QUE FAZ O ENCÉFALO CRESCER DURANTE O DESENVOLVIMENTO? Bandeira, F. C. S.; Lent, R.; Herculano-Houzel, S.; Anatomia CCS-UFRJ

**Objetivo:**

Entre o nascimento e a maturidade, o encéfalo de mamíferos passa por modificações que o levam ao tamanho adulto. Essas modificações são regidas em princípio pelo aumento do número e tamanho individual das células, definido aqui como seu soma, mais arborizações e espaço extracelular adjacente. Objetivamos determinar o quanto o crescimento pós-natal pode ser explicado por um acréscimo de células.

**Métodos e Resultados:**

Empregamos o Fracionador Isotrópico (Herculano-Houzel e Lent, 2005. J. Neurosci., 25(10): 2518-21) para estimar o total de células no encéfalo de 30 ratos Wistar (P0 a P81). Os encéfalos foram dissecados em regiões de interesse (córtex cerebral, cerebelo, bulbo olfatório e o restante) que foram analisadas separadamente. Observamos que embora o crescimento seja desigual entre as regiões, o peso de cada uma, e do encéfalo como um todo, aumenta proporcionalmente como uma função linear do número de células. Tanto o peso quanto o número de células do encéfalo (e de cada região de interesse) aumentam rapidamente até P20, e então lentamente até cerca de P40. Entre o nascimento e a idade adulta (média entre 6 animais de P33 a P81), o peso do encéfalo aumenta 6,1x, mas esse crescimento não é homogêneo entre as regiões de interesse: córtex, cerebelo, bulbo olfatório e o conjunto das demais áreas aumentam seus pesos, respectivamente, em 6,3, 18, 6,6 e 4,5x. Durante o mesmo período, o número de células no encéfalo aumenta 4,8x, sendo que em cada região esse aumento é de: 2,0x no córtex, 44,6x no cerebelo, 5,1x no bulbo e 2,2x no conjunto das demais áreas.

**Conclusões:**

Isso indica que o crescimento pós-natal das várias estruturas encefálicas se dá por um acréscimo de células, acompanhado ou não pelo aumento do tamanho celular médio, conforme a estrutura. Por exemplo, enquanto o córtex cresce por uma duplicação do número de células e aumento de 3,15x do tamanho celular médio, o aumento drástico no número de células no cerebelo ao longo do desenvolvimento pós-natal parece ser suficiente para atingir o tamanho adulto.

02.057

VIAS NERVOSAS ANTERIORES DOS GÂNGLIOS PEDAIS ENVOLVIDAS NA INERVAÇÃO DA MUSCULATURA PEDIOSA DO CARACOL TERRESTRE. Marchi, M. L. Centro de Ciências Biológicas UFRGS

**Objetivo:**

Realizar a marcação das vias nervosas anteriores dos gânglios pedais (GP) envolvidas na inervação da musculatura pediosa, através da técnica de infusão retrógrada e anterógrada de cloreto de cobalto.

**Métodos e Resultados:**

Após anestesia foram retirados o complexo subesofageano juntamente ao nervo (Direito ou Esquerdo) para marcação retrógrada; ou retirado um destes nervos juntamente à porção do pé na qual se inseria para marcação anterógrada. As marcações foram feitas *in vitro* com  $\text{CoCl}_2$  0,2M. Após incubação a 4°C por 48h o material foi revelado em sulfeto de amônio 0,2%, fixado em Carnoy, crioprotetido, seccionado em criostato (50 $\mu\text{m}$ ), intensificado em  $\text{AgNO}_3$ , diafanizados e cobertos com bálsamo e lamínula

**Resultados:**

Pela marcação retrógrada dos nervos anteriores do GP identificou-se um grande número de fibras e somas neuronais localizadas no neuropilo ipsilateral, comissura pedal-pedal, neuropilo do GP contralateral, conetivo pedal-pleural e neuropilo do gânglio pleural(GPI) ipsilateral. Os somas neuronais localizavam-se no GP ipsilateral e contralateral e no GP contralateral. A marcação anterógrada mostrou nervos calibrosos com axônios individualmente marcados penetrando pela região dorsal da região anterior do pé. Estes nervos ramificam-se e os ramos menos calibrosos dirigem-se ao integumento ventral.No epitélio ventral observaram-se neurônios marcados com seus processos dendríticos na região apical deste epitélio.

**Conclusões:**

Neurônios do GP e GPI originam os nervos anteriores do GP, os quais inervam parcialmente a musculatura pediosa.

02.058

REATIVIDADE DA ENZIMA CITOCROMO OXIDASE NO ISOCÓRTEX DE DOIS ROEDORES HISTRICOMORFOS COM HÁBITOS DISTINTOS, CUTIA (*DASYPROCTA AGOUTI*) E PACA (*CUNICULUS PACA*). <sup>1</sup>Rocha, E. G.\*\*; <sup>2</sup>Santiago, L. F.; <sup>1</sup>Freire, M. A. M.\*\*; <sup>1</sup>Picanço-Diniz, C. W.; <sup>1</sup>Pereira Jr., A.; <sup>6</sup>Franca, J. G.; <sup>1</sup>Morfologia UFPA; <sup>2</sup>Histologia UFPA; <sup>3</sup>IBCCF-UFRJ

**Objetivo:**

Avaliar o padrão de reatividade da enzima mitocondrial citocromo oxidase (CO) no isocórtex de dois roedores amazônicos de médio porte e hábitos distintos, cutia (diurno) e paca (noturno).

**Métodos e Resultados:**

Quatro animais ( $n=2$  para cada espécie) foram perfundidos com solução salina e paraformaldeído a 4%. Os hemisférios cerebrais foram achatados entre lâminas de vidro, seccionados no plano tangencial e reagidos para revelar a atividade histoquímica de CO (Brain Res. 171; 11, 1979). O padrão de distribuição tangencial da CO no isocórtex de ambas as espécies, em analogia com outros mamíferos, revela a posição relativa das áreas sensoriais primárias auditiva (AI), somestésica (SI) e visual (VI). Na cutia, VI ocupa a maior porção de córtex (21%), seguida por SI (6%) e AI (5%). Já na paca, SI possui a maior representação (16%), seguida por VI (10%) e AI (7%). Em SI parece existir uma representação completa da metade contralateral do corpo que pode ser evidenciada pelo padrão histoquímico, incluindo um arranjo modular na camada IV da área de representação da face, similar ao campo de barris descrito em roedores de menor porte (J. Comp. Neurol, 158; 437,1974).

**Conclusões:**

A localização tangencial das áreas sensoriais primárias na cutia e na paca é semelhante à descrita para outros roedores. A maior representação relativa de VI na cutia e SI na paca pode estar relacionada às diferenças comportamentais associadas aos hábitos diurno e noturno respectivamente.

02.059

ORGANIZAÇÃO TOPOGRÁFICA E HODOLÓGICA DA ÁREA SOMESTÉSICA SECUNDÁRIA (SII) DA CUTIA (*DASYPROCTA AGOUTI*). <sup>1</sup>Santiago, L. F.; <sup>2</sup>Rocha, E. G.\*\*; <sup>3</sup>Lent, R.; <sup>3</sup>Houzel, J. C.; <sup>2</sup>Freire, M. A. M.\*\*; <sup>2</sup>Picanço-Diniz, C. W.; <sup>2</sup>Pereira Jr., A.; <sup>4</sup>Franca, J. G. <sup>1</sup>Histologia UFPA; <sup>2</sup>Morfologia UFPA; <sup>3</sup>Anatomia ICB-CCS-UFRJ; <sup>4</sup>IBCCF-UFRJ

**Objetivo:**

Avaliar o padrão de conexões córtico-corticais, após injeções únicas e restritas de dextrana biotinizada (BDA) na área SII da cutia, correlacionando-o com o mapa somatotópico desta área.

**Métodos e Resultados:**

Sete cutias adultas foram submetidas a registro eletrofisiológico do córtex somestésico, quando a superfície corporal foi estimulada com a ponta de varetas ou através da manipulação passiva dos membros. Estimulação auditiva e visual também foram testadas. Após a identificação da área SII, 0,4 µl do neurotraçador BDA foram injetados na região correspondente à representação da pata anterior. Após o tempo de sobrevivência necessário para a difusão do neurotraçador (9-49 dias) os animais foram submetidos a um mapeamento eletrofisiológico detalhado e lesões eletrolíticas foram feitas para posterior identificação histológica dos sítios de registro. Ao final do experimento, os animais foram perfundidos com solução salina a 0,9% e paraformaldeído a 4%. O mapeamento eletrofisiológico revelou uma organização topográfica completa do corpo em SII, localizada em uma faixa lateral do córtex parietal. SII apareceu como uma imagem reduzida e invertida da área somestésica primária (SI) localizada mais medialmente, similar ao previamente descrito para esta espécie (Brain Behav. Evol. 17; 218, 1980). Injeção de BDA em SII revelou uma densa projeção homotópica ipsilateral para SI. Um foco de projeção menos denso próximo à fissura rinal também pôde ser identificado. Tal região parece corresponder à área parietal rinal (PR) descrita em outras espécies.

#### **Conclusões:**

A localização relativa, topografia e hodologia das projeções de SII da cutia são similares às aquelas descritas para outras espécies, sugerindo um plano comum de organização para SII no córtex parietal dos mamíferos.

02.060

PADRÃO DE EXPRESSÃO DO RECEPTOR TIPO II PARA TGF-β1 (TGFR II) EM ASTRÓCITOS DE CÓRTEX CEREBRAL AO LONGO DO DESENVOLVIMENTO. Sousa, V. O.; Almeida, J. C.\*; Eller, C. M.\*; Gomes, F. C. A.; Anatomia CCS-UFRJ

#### **Objetivo:**

Demonstramos que neurônios corticais ativam o promotor de GFAP (proteína acídica fibrilar glial, marcador astrocitário) e induzem a diferenciação astrocitária através da secreção de TGF-β1. Esse evento é modulado ao longo do desenvolvimento cortical, sendo os astrócitos embrionários (14 dias embrionários – E14) mais responsivos aos neurônios do que os neonatos (P0). Astrócitos mais velhos (10 dias de nascidos - P10) não respondem aos neurônios. A sinalização de TGF-β1 envolve 2 receptores de membrana do tipo serina-treonina quinases denominados TGFRI e TGFR II. Pouco se sabe sobre a expressão desses receptores durante o desenvolvimento do sistema nervoso central. Nosso objetivo foi analisar os níveis de expressão de TGFR II em astrócitos de diferentes idades in vitro.

#### **Métodos e Resultados:**

Culturas de astrócitos corticais E14, P0 e P10 foram cultivadas em meio DMEM/F12 com 10% de soro fetal bovino até a confluência. Os níveis de TGFR II foram analisados por imunocitoquímica, Western blot e reação de polimerase em cadeia utilizando a transcriptase reversa (RT-PCR). A imunolocalização de TGFR II revelou um padrão de distribuição do receptor semelhante nas três idades estudadas: pontual e distribuído por toda a superfície celular. A expressão de TGFR II em astrócitos P0 foi identificada através das 3 técnicas citadas. Ensaios de imunocitoquímica e Western blot não revelaram alterações quantitativas nos níveis de expressão do receptor em astrócitos E14 e P0. No entanto esses experimentos indicaram uma possível diminuição dos níveis do receptor em P10.

#### **Conclusões**

Estes resultados indicam que apesar de astrócitos corticais embrionários serem mais responsivos à TGF-β1/neurônios, esse evento não está relacionado com os níveis de TGFR II. Todavia, a não responsividade dos astrócitos em P10 pode estar relacionada à diminuição na expressão do receptor.

02.061

A SIMPLE AND FAST DENSITOMETRIC METHOD TO ANALYZE TYROSINE HYDROXYLASE IMMUNOREACTIVITY IN THE SUBSTANTIA NIGRA PARS COMPACTA AND IN THE VENTRAL TEGMENTAL AREA. <sup>1</sup>Xavier, L. L.; <sup>2</sup>Viola, G. G.\*; <sup>3</sup>Ferraz, A. C.; <sup>4</sup>da Cunha, C.; <sup>2</sup>Netto, C. A.; <sup>5</sup>Achaval, M. <sup>1</sup>Ciências Fisiológicas PUC-RS; <sup>2</sup>Bioquímica ICBS-UFRGS; <sup>3</sup>Fisiologia UFPR; <sup>4</sup>Fisiologia e Farmacologia UFPR; <sup>5</sup>Ciências Morfológicas UFRGS



### **Objetivo:**

Parkinson's disease is a disorder promoted by degeneration of dopaminergic nigrostriatal system. This degeneration is traditionally assessed by tyrosine hydroxylase (TH) immunohistochemistry. Immunohistochemistry has been extensively used to locate TH in mesencephalic structures after different experimental Parkinson's disease treatments, but scarcely used as a quantitative tool. This protocol was developed to evaluate immunohistochemistry for tyrosine hydroxylase (TH) in the substantia nigra pars compacta (SNpc) and in the ventral tegmental area (VTA) after different Parkinson's disease treatments, employing Image Pro Plus Software.

### **Métodos e Resultados:**

To demonstrate our protocol eight female adult Wistar rats weighing between 220-250 were used. The animals were kept under a constant 12:12h light-dark cycle (lights on at 7:00 a.m.) at a room temperature of  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  and maintained with food and water *ad libitum*. The animals were divided 2 groups (4 animals each): control and animals submitted to intranigral infusion of neurotoxin 6-hydroxydopamine (6-OHDA, 6  $\mu\text{g}/\text{side}$ ). Forty-five days after infusion, under deep anesthesia (200 mg/kg sodium thiopental), the animals were transcardially perfused with paraformaldehyde and the brains were removed from the skulls, cryoprotected by immersion in 30% sucrose solution. For each brain, serial coronal sections (50  $\mu\text{m}$ ) were obtained using a cryostat (Leitz, Digital 1702) The immunohistochemical procedure for TH was performed. The intensity of the reaction product of TH was measured semi-quantitatively using a Nikon Eclipse E-600 (50X) microscope coupled to a Pro-Series High Performance CCD camera and Image Pro Plus Software 4.1 (Media Cybernetics, CA, USA ). This procedure can be divided into seven different steps: 1-Creating and measuring the Area of Interest (AOI); 2-Calibrating the Optical density; 3-Acquiring, converting and saving images; 4-Performing the background correction; 5-Setting of the AOI in the acquired image to measure the optical density; 6-Measuring neuronal density (number of neurons per  $\text{mm}^2$ ); 7-Creating macros. To create and save an appropriate AOI; Select: New AOI command. The AOI created can be measured using the measure commands calibrated by an image of micrometer object captured with the same magnifications. The size and shape of the AOI should be determined in order to avoid the borders of the SNpc and VTA and to collect a significant number of pixels from this area. For our work, were created two squared areas of interest, measuring 19,600  $\mu\text{m}^2$  and 1,200  $\mu\text{m}^2$  and they were named ODTH and COUNTTH respectively. To calibrate optical density select: Measure/Calibration/Intensity calibration; click in the Std Optical Density and click in OK. To acquire images the some previous steps are necessary: Turn on microscope lamp and leave on for at least 15 minutes to stabilize illumination. Select in the main menu: Acquire/Video/Digital/Start and adjust the illumination using a proper Koehler alignment . Adjust the level of light source to a point that permits image capture without oversaturating the CCD camera, if necessary, neutral filters can be used . After these procedures select an image of SNpc and/or VTA and click in SNAP, return to the main menu and select:Edit/Convert to/Gray scale 8; return to the main menu and select: File/Save. To perform the background correction a background image should be captured and opened during the process, in our protocol this image was named background. The background image was generated with the slide removed from the microscope stage. For this procedure the following steps are necessary; select: Background operations/background correction. Click in the the black level to define the black. Black is the mean intensity generated when no light goes through the material, in our case 5.3 (0-255); click in OK. The optical density should be measured only in the image generated after the background correction. The algorithm employed in the background correction is based on the following formula:  $CI_{x,y} = [(I_{x,y} - BL / BI_{x,y} - BL) \times (N - BL)] + BL$ . Where:  $CI_{x,y}$  = New pixel in the corrected image;  $I_{x,y}$  = Pixel value of the original image at location (x,y);  $BI_{x,y}$  = Pixel value of the background image at location (x,y);  $M$  = Average pixel value of the background image;  $BL$  = Level of black. To set the AOI and measure the optical density the following steps are necessary. Select:Edit/AOI; click in the ODTH and click OK and set the AOI into the SNpc or VTA, In this procedure obvious blood vessels and other artifacts should be avoided. To measure the optical density select:Measure/Histogram. The result obtained represent the mean of all pixels in the AOI and it should be transposed to statistical package. The optical density was calculated using the following formula:  $OD_{(x,y)} = -\log [(INT_{(x,y)} - BL)/(INC - BL)]$ . Where:  $OD$  = Optical Density;  $INT_{(x,y)}$  is the intensity at pixel  $(x,y)$ ;  $BLACK$  is the intensity generated when no light goes through the material;  $INC$  is the intensity of the incident light. In order to confirm the results generated by optical density measurements, the number of TH-IR immunoreactive per  $\text{mm}^2$  was estimated. The images of

SNPc and VTA were captured, not converted to gray scale, and an AOI was randomly overlaid in these regions. The soma of TH immunoreactive neurons located inside this square or intersected by the lower and/or right edge of the square were counted. The neurons that were intersected by the upper and/or left edge of the square were not counted. At least 20 sections were analyzed in each brain. The time required to perform the measurements of optical density can be greatly reduced by macros. In our study we created three macros using Auto Pro, a Visual Basic programming language for IPP 4.1. The animals submitted to 6OHDA treatment showed a statistically significant decrease of TH immunoreactivity and neuronal density in SNPc, but not in VTA. TH immunoreactivity mean  $\pm$ SD (Control SNPc =  $0.45 \pm 0.042$  ; 6OHDA SNPc =  $0.23 \pm 0.014^{***}$ ; Control VTA =  $0.50 \pm 0.075$ ; 6OHDA VTA =  $0.43 \pm 0.033$ .  $p=0.0038^{***}$ ). Neuronal density (neurons/mm<sup>2</sup>) mean  $\pm$ SD (Control SNPc =  $481.25 \pm 147$  ; 6OHDA SNPc =  $77.05 \pm 93^{***}$ ; Control VTA =  $412.3 \pm 125$  6OHDA VTA =  $439.58 \pm 139$ .  $p=0.0024^{***}$ ).

#### **Conclusões:**

Our protocol is the first detailed description of a fast and precise densitometric method to evaluate TH immunoreactivity in SNPc and VTA using Image Pro Plus software. We believe that this protocol will facilitate the evaluation of TH immunoreactivity after different experimental Parkinson's disease treatment.

02.062

ATIVIDADE ASTROCITÁRIA E SUA RELAÇÃO COM AS ALTERAÇÕES SINAPTOLÓGICAS EM CAMUNDONGOS DE DIFERENTES LINHAGENS ISOGÊNICAS APÓS A TRANSECÇÃO DO NERVO CIÁTICO. Emirandetti, A.; Oliveira, A. L. R. Anatomia UNICAMP

#### **Objetivo:**

Os astrócitos são células gliais que estão em contato com os neurônios, envolvendo o pericário e dendritos. Após lesão nervosa periférica, ocorrem alterações no corpo celular dos neurônios e astrócitos circunjacentes. Tais modificações incluem a retração dos terminais pré-sinápticos. Esta, possivelmente, é influenciada pelo grau de reatividade glial. Tendo-se em vista as variações da resposta a axotomia em diferentes camundongos isogênicos, este estudo objetivou investigar, através de imunoistoquímica (IH) e microscopia eletrônica de transmissão (MET), a resposta astrocitária após lesão nervosa nas linhagens C57BL/6J, A/J e Balb/cJ.

#### **Métodos e Resultados:**

Camundongos machos, de 6 a 8 semanas, foram anestesiados e submetidos à transecção unilateral do nervo ciático, sendo sacrificados e perfundidos transcárdicamente após 1 e 3 semanas de sobrevivência. Os espécimes destinados para IH foram fixados com formalina 10% e congelados em tissue-tek e aqueles para MET, com glutaraldeído 2,5%, sendo incluídos em araldite. Para IH foram utilizados anticorpos anti-GFAP (glial fibrillary acidic protein) e anti-ezrin, sendo os preparados observados em microscópio confocal. Os resultados de IH e MET demonstraram um aumento significativo da reatividade dos astrócitos presentes nos segmentos medulares contendo motoneurônios axotomizados, nas três linhagens estudadas. Contudo, a imunomarcagem para GFAP e ezrin em camundongos A/J foi superior ao observado em Balb/cJ e C57BL/6J, que apresentaram níveis semelhantes de expressão dessas proteínas.

#### **Conclusões:**

É possível que a resposta glial mais intensa da linhagem A/J, após a axotomia, acelere a dinâmica das alterações dos circuitos medulares, contribuindo para o aumento do potencial regenerativo dos neurônios axotomizados, resultando numa maior capacidade regenerativa axonal.

02.063

DISTRIBUIÇÃO DO RECEPTOR P2X<sub>2</sub> NOS NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DO ÍLEO DE RATOS SUBMETIDOS A DESNUTRIÇÃO PROTEÍCA PRÉ E PÓS-NATAL E À RENUTRIÇÃO PÓS-NATAL <sup>1</sup>Misawa, R. <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup>Girotti, P. A. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup>Mizuno, M. S.; <sup>1</sup>Liberti, E. A.; <sup>1</sup>Castelucci, P. <sup>1</sup>Anatomia ICB III-USP; <sup>2</sup>CCS-UMC

#### **Objetivo:**

A desnutrição tem efeitos deletérios sobre os neurônios mioentéricos e na literatura há pouca informação sobre esses efeitos nos receptores purinérgicos. Este trabalho analisou os efeitos da desnutrição e renutrição sobre a expressão do receptor P2X<sub>2</sub> no íleo.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados cinco grupos experimentais: 1. ratos que receberam ração protéica (20% de proteína-normoprotéica) durante a gestação até 21 dias de idade (N21), 2. ratos que receberam ração hipoprotéica (5% de proteína) durante a gestação até 21 dias (D21), 3. ratos que receberam ração protéica até 21 dias e a mesma ração por mais 21 dias (N42), 4. ratos que receberam ração hipoprotéica até 21 dias e a mesma ração por mais 21 dias (D42) e 5. ratos do grupo D21 que passaram a receber ração protéica por mais 21 dias (RN42). Os animais N42 e RN42 permaneceram em gaiolas metabólicas. Os íleos foram preparados para métodos imunohistoquímicos de duplas marcações do receptor P2X<sub>2</sub> com o óxido nítrico sintase (NOS) ou calretinina (Calr) ou a colina acetil transferase (ChAT). Os dados da gaiola metabólica demonstraram as médias em gramas de: peso de 139±31 no N42 e 62±12 no RN42, ingestão de ração de 18±2 no N42 e 11±4 no RN42 e fezes de 1,27±0,4 no N42 e 1,17±0,5 no RN42. A imunomarcagem demonstrou aumento da intensidade do receptor P2X<sub>2</sub> na membrana citoplasmática nos grupos D21 e D42, no grupo RN42 a intensidade foi similar ao N42. As duplas marcações demonstraram que 95% de neurônios NOS-ir colocalizavam com o receptor P2X<sub>2</sub> nos cinco grupos. Nos neurônios com Calr-ir, o receptor P2X<sub>2</sub> colocalizou em: 87% no N21, 89% no D21, 90% no N42, 98% no D42 e 92% no RN42. Neurônios ChAT-ir demonstraram colocalizar com o receptor 72% no N42, 74% no D42 e 79% no RN42.

**Conclusões:**

Do exposto conclui-se que a desnutrição protéica altera a expressão do receptor P2X<sub>2</sub> podendo interferir na excitabilidade dos neurônios entéricos e nas funções intestinais e que, a renutrição foi eficaz na recuperação da expressão do receptor P2X<sub>2</sub>.

02.064

DISTRIBUIÇÃO DO RECEPTOR P2X<sub>2</sub> NOS NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS DO ÍLEO DE RATOS SUBMETIDOS A DESNUTRIÇÃO PROTEICA PRÉ E PÓS-NATAL E À RENUTRIÇÃO PÓS-NATAL. <sup>1</sup> Misawa, R.; <sup>2</sup> Girotti, P. A.; <sup>3</sup> Mizuno MS; <sup>2</sup> Liberti, E. A.; <sup>2</sup> Castellucci, P.; <sup>1</sup> ICB III-USP; <sup>2</sup> Anatomia ICB III-USP; <sup>3</sup> CCS-UMC

**Objetivo:**

A desnutrição tem efeitos deletérios sobre os neurônios mioentéricos e na literatura há pouca informação sobre esses efeitos nos receptores purinérgicos. Este trabalho analisou os efeitos da desnutrição e renutrição sobre a expressão do receptor P2X<sub>2</sub> no íleo.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados cinco grupos experimentais: 1. ratos que receberam ração normoprotéica (20% de proteína) durante a gestação até 21 dias de idade (N21), 2. ratos que receberam ração hipoprotéica (5% de proteína) durante a gestação até 21 dias (D21), 3. ratos que receberam ração normoprotéica até completarem 42 dias (N42), 4. ratos que receberam ração hipoprotéica até completarem 42 dias (D42) e 5. ratos do grupo D21 que passaram a receber ração protéica por mais 21 dias (RN42). Os animais N42 e RN42 permaneceram em gaiolas metabólicas. Os íleos foram preparados para métodos imunohistoquímicos de duplas marcações do receptor P2X<sub>2</sub> com o óxido nítrico sintase (NOS) ou calretinina (Calr) ou a colina acetil transferase (ChAT). Os dados da gaiola metabólica demonstraram as médias em gramas de: peso de 139±31 no N42 e 62±12 no RN42, ingestão de ração de 18±2 no N42 e 11±4 no RN42 e fezes de 1,27±0,4 no N42 e 1,17±0,5 no RN42. A imunomarcagem demonstrou aumento da intensidade do receptor P2X<sub>2</sub> na membrana citoplasmática nos grupos D21 e D42, no grupo RN42 a intensidade foi similar ao N42. As duplas marcações demonstraram que 95% de neurônios NOS-ir colocalizavam com o receptor P2X<sub>2</sub> nos cinco grupos. Nos neurônios com Calr-ir, o receptor P2X<sub>2</sub> colocalizou em: 87% no N21, 89% no D21, 90% no N42, 98% no D42 e 92% no RN42. Neurônios ChAT-ir demonstraram colocalizar com o receptor 72% no N42, 74% no D42 e 79% no RN42.

**Conclusões:**

Concluiu-se que a desnutrição protéica alterou a expressão do receptor P2X<sub>2</sub> podendo interferir nas funções intestinais e que, a renutrição foi eficaz na recuperação da expressão do receptor P2X<sub>2</sub>.

02.065

DISTRIBUTION OF THE NEURONAL PHOSPHOPROTEIN DARPP-32 IN THE FRONTAL CORTEX OF THE RAT. <sup>1</sup>Silveira, A. S.; <sup>2</sup>Sambé, N. A. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup>Metzger, M. A. Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

**Objetivo:**

The neuronal phosphoprotein DARPP-32 has been shown to be a major regulator of the efficacy of dopaminergic neurotransmission. Its distribution and functional role in the neostriatum are well documented. In contrast there is no detailed knowledge about its distribution in the cerebral cortex. For this purpose we investigated with immunohistochemical methods the distribution of this phosphoprotein in the frontal cortex of the rat.

**Métodos e Resultados:**

40 to 60 day-old male rats (Wistar, 200-250 grams) were perfused with 4% paraformaldehyde. Brains were cut on a vibratome and coronal cortical sections were incubated with a monoclonal antibody to DARPP-32. Standard immunoperoxidase or fluorescence techniques were used for visualization. DARPP-32 staining could be observed in several neuronal somata and proximal dendrites in all cortical areas of the frontal cortex. DARPP-32-positive (+) neurons were generally enriched in cortical layers V and VI and DARPP-32 staining was almost absent in layer IV. In all cortical areas examined, the majority of DARPP-32+ neurons showed morphological characteristics of pyramidal cells. In addition, several glial elements were found to stain positive in the corpus callosum. In the prefrontal cortex (PFC), we observed a pronounced dorsal-ventral gradient in the number of DARPP-32+ neurons. The highest numbers of DARPP-32+ neurons was found in the dorsal precentral medial cortex (PrCm) and the lowest number in the most ventral subarea of the PFC, the infralimbic cortex (IL). In contrast to the prefrontal areas, the premotor and motor areas in the parietal cortex additionally showed prominent DARPP-32 staining in layers II-III.

**Conclusões:** DARPP-32 shows a typical laminar pattern in the frontal cortex with distinct differences between different subareas. Interestingly, more DARPP-32+ neurons were found in premotor and motor areas than in the prefrontal cortex.

02.066

EFEITO DA MANIPULAÇÃO DO SISTEMA SEROTONINÉRGICO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DOS NEURÔNIOS DO PLEXO INTRAMURAL DA TRAQUÉIA. <sup>1</sup>Galindo, L. C. M.; <sup>1</sup>Neves, P. R. A.\*; <sup>1</sup>Guimarães, B. M.\*; <sup>1</sup>Montenegro, R. F. P.\*; <sup>1</sup>Franca, T. J. B. M.\*; <sup>6</sup>Moraes, S. R. A. de; <sup>2</sup>Silva, H. J.\*; <sup>1</sup>Afonso, L. B.\*; <sup>2</sup>Manhães-de-Castro, R. <sup>1</sup>Anatomia UFPE; <sup>2</sup>Nutrição UFPE

**Objetivo:**

Objetivou-se neste estudo avaliar as repercussões imediatas e tardias da manipulação farmacológica serotoninérgica, durante o período crítico de desenvolvimento sobre o número e o tamanho dos neurônios do plexo intramural da traquéia de ratos.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos 60 ratos machos, albinos da Linhagem Wistar divididos em dois grupos: Grupo Salina (GS; solução salina NaCl 0,9%)-(n=30) e Grupo Fluoxetina (GF; fluoxetina 10mg/kg)-(n=30); com idades de 21 e de 90 dias. Aos 21º e 90º dia de vida, os animais foram sacrificados, coletada a traquéia que foi fixada em Giemsa e dissecada para obtenção dos preparados de membrana da túnica muscular e em seguida corada pelo método de Giemsa (Barbosa, 1978). O número de neurônios aos 21 dias foi de 11,67±3,5 (GS), de 38±11,05\* (GF). Aos 90 dias foi de 77,83±56,26 (GS) e de 56±21,6 (GF). A área (µm<sup>2</sup>) e perímetro (µm) dos neurônios aos 21 dias foi respectivamente, 26,5±7,82\* e 18,9±2,7\* (GS) e de 48,66±4,86 e 25,76±1,31 (GF). Aos 90 dias foi respectivamente 56,79±13,07 e 27,49±3,18 (GS) e de 59,22±11,48 e 28,23±2,72 (GF).

**Conclusões:**

Nossos resultados sugerem que a administração da Fluoxetina, durante o período crítico do desenvolvimento do SN, exerce um efeito positivo sobre a população neuronal do plexo intramural da traquéia. A maior disponibilidade da serotonina na fenda sináptica por efeito da droga Fluoxetina, poderia ser uma explicação para esses resultados.

02.067

ESTUDO DA APOPTOSE E EXPRESSÃO DE BCL-2 E BAX NA MEDULA LOMBAR DE RATOS NEONATOS APÓS SECÇÃO DO CIÁTICO E TRATAMENTO COM MELATONINA. <sup>1</sup>Rogério, F.;

<sup>1</sup>Sá, R. C. \*; <sup>2</sup>Queiroz, L. S.; <sup>1</sup>Langone, F.; <sup>1</sup>Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP; <sup>2</sup>Anatomia Patológica UNICAMP

**Objetivo:**

Axotomia periférica em ratos neonatos induz ampla morte neuronal. Estudamos a expressão da proteína anti-apoptótica Bcl-2 e da promotora de morte celular Bax na medula lombar de ratos neonatos após secção do ciático e tratamento com o antioxidante melatonina.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar (n=30) com 2 dias de vida (P2) foram submetidos a secção unilateral do ciático e receberam melatonina (M; 1mg/kg,sc) ou veículo (V) 1h antes e imediatamente após a axotomia e 1 e 2h depois da lesão. De P3-P7, o tratamento foi diário (dose única). Os animais foram sacrificados 3h, 6h, 24h, 72h ou 5 dias pós-lesão. Ratos intactos (I;n=20) foram usados como controle. Cortes seriados da intumescência lombar em parafina foram usados para coloração de Nissl, reação de TUNEL, detecção imunistoquímica da Bcl-2 ou Bax. Os motoneurônios (MN) do grupo ventrolateral do lado lesado (L) e normal (N) foram contados e o índice de sobrevivência neuronal (ISN=L/N) calculado. Bcl-2 e Bax apresentaram imunorreatividade (IR) citoplasmática. Independentemente da lesão, IR para Bcl-2 foi intensa em todas as células e, para Bax, foi fraca em MN e forte em possíveis células apoptóticas do corno dorsal. Núcleos TUNEL+ (T+) foram mais observados no corno dorsal e raramente entre MN. Nos ratos lesados, os números de células Bax+ (B+) e T+ foram maiores que nos controles 24h pós-axotomia nas lâminas de Rexed ipsilaterais IV-VI e I-III, respectivamente. M não alterou as IRs nem B+ (M=15±1.8, V=20±3.8, I=3±0.3;p<0.05), porém, reduziu T+ (M=3±1.2, V=7±2.1, I=0.3±0.3;p<0.05) e aumentou o ISN 24h e 3 dias pós-lesão (M=0.96±0.05, V=0.76±0.03, I=1.00±0.03 e M=0.82±0.04, V=0.61±0.03, I=1.01±0.03, respectivamente; p<0.05).

**Conclusões:**

M pode ter reduzido a morte celular por apoptose nas lâminas I-III e a perda de MN por ação antioxidante direta, sem alterar a expressão de Bax e Bcl-2.

02.068

ESTUDO DO DESENVOLVIMENTO LONGITUDINAL DO INTESTINO DELGADO E DA EVOLUÇÃO PONDERAL DE RATOS SUBMETIDOS À DESNUTRIÇÃO PROTÉICA NEONATAL. <sup>1</sup>

Galindo, L. C. M.; <sup>1</sup>Guimarães, B. M.\*; <sup>1</sup>Montenegro, R. F. P.\*; <sup>1</sup>Franca, T. J. B. M.\*; <sup>1</sup>Moraes, S. R. A.; <sup>1</sup>Neves, P. R. A.\*; <sup>2</sup>Silva, H. J.\*; <sup>2</sup>Manhães-de-Castro, R. <sup>1</sup>Anatomia UFPE; <sup>2</sup>Nutrição, Universidade Federal de Pernambuco

**Objetivo:**

Estudamos as repercussões imediatas e tardias da desnutrição, durante o período crítico de desenvolvimento do sistema nervoso sobre o desenvolvimento ponderal e o crescimento longitudinal do intestino delgado.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos 45 ratos machos, albinos da linhagem Wistar divididos em 2 grupos: Grupo Nutrido (GN) (n=21) (dieta "LABINA" - 23% proteína) e Grupo Desnutrido (GD) (n= 24) (Dieta Básica Regional - DBR - 8% proteína) (Arch. Latinoam. de Nut. 533, 1990). Aos 21 e 71 dias de vida, os animais foram pesados, sacrificados havendo posterior coleta e mensuração de todo o intestino delgado com uma régua milimetrada. Em relação ao peso corpóreo dos animais obteve-se os seguintes valores, aos 21 dias: GD = 23,08g ± 3,87 e GN= 55,88g ± 4,94 (p=0,001); aos 71 dias, GD = 229,83g ± 40,46 e GN = 249,39g ± 31,76 (p=0,246). O comprimento do intestino delgado, nos animais de 21 dias foi GD= 51,23cm ± 3,99 e GN =71,5cm ± 8,32 (p= 0,001); aos 71 dias, GD= 110,34cm ± 9,23 e GN= 121,91cm ± 13,95 (p=0,034).

**Conclusões:**

Nossos resultados sugerem que a desnutrição neonatal determina um retardo no desenvolvimento corporal e no comprimento do intestino delgado numa fase imediatamente após a agressão nutricional, havendo persistência da redução do comprimento longitudinal do intestino mesmo após um período de recuperação nutricional o que comprova os achados já descritos na literatura onde seqüelas provocadas por carências nutricionais podem assumir um caráter permanente e irreversível.

02.069

ESTUDO IMUNO-HISTOQUÍMICO DA RESPOSTA ASTROCITÁRIA DE EXPRESSÃO DE VIMENTINA APÓS DANO GLIOTÓXICO NO TRONCO ENCEFÁLICO DE RATOS DIABÉTICOS. Bondan, E. F.; Lallo, M. A. Neurociências UNIBAN

**Objetivo:**

A Diabetes mellitus causa prejuízo na resposta inflamatória e de reparo em diversos tecidos corporais. O brometo de etídio (BE) é uma droga gliotóxica, capaz de provocar no sistema nervoso central (SNC) o desaparecimento focal astrocitário e oligodendroglial. Após agressão no SNC, o reparo tecidual é realizado invariavelmente, em maior ou menor grau, com a participação astrocitária. Nesse sentido, o presente estudo teve por objetivo observar se existe interferência na resposta astrocitária de reexpressão de Vimentina (VIM) pós-injeção do gliotóxico no SNC em ratos diabéticos. A VIM constitui um componente dos filamentos intermediários dos astrócitos que é perdido progressivamente durante o desenvolvimento astrocitário normal, mas que pode ser reexpresso em situações de injúria.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar adultos foram tratados para indução de Diabetes mellitus mediante injeção intravenosa única de estreptozotocina (50 mg/kg). Dez dias após, receberam injeção de 10 microlitros de BE a 0,1% (grupo I) na cisterna basal do tronco encefálico. Ratos não-diabéticos foram injetados com igual volume de BE (grupo II). Os animais foram perfundidos das 24 horas aos 31 dias pós-injeção intracisternal, com coleta de amostras do tronco encefálico para estudo imuno-histoquímico para a VIM (método da avidina-biotina). A densidade astrocitária nas lesões de 31 dias induzidas pelo BE foi comparada entre os grupos I e II. Ratos diabéticos e não-diabéticos apresentaram lesões similares causadas pelo gliotóxico. O desaparecimento astrocitário da área central foi notado 24 horas após injeção e astrogliose periférica encontrada a partir dos 3 dias, com reexpressão de VIM nos astrócitos das bordas lesionais. Não houve diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) quanto à densidade média por  $\text{mm}^2$  de astrócitos reativos à VIM entre os grupos I ( $11,86 \pm 2,18$ ) e II ( $12,18 \pm 2,51$ ).

**Conclusões:**

Não houve evidência de que a Diabetes mellitus de curta duração tenha prejudicado o desenvolvimento da cicatriz glial após dano gliotóxico.

02.070

MELATONINA AUMENTA A EXPRESSÃO DA SOD1 NA INTUMESCÊNCIA LOMBAR DE RATOS NEONATOS APÓS SECÇÃO DO CIÁTICO <sup>1</sup>Rogério, F.; <sup>2</sup>Teixeira, S. A. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup>Rezende, A. C. S. <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup>Sá, R. C. de <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup>Queiroz, L. S.; <sup>5</sup>de Nucci, G.; <sup>5</sup>Muscará, M. N.; <sup>1</sup>Langone, F. <sup>1</sup>Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP; <sup>2</sup>Farmacologia UNICAMP; <sup>3</sup>Biologia Celular IB-UNICAMP; <sup>4</sup>Anatomia Patológica UNICAMP; <sup>5</sup>Farmacologia ICB I-USP

**Objetivo:**

Estresse oxidativo tem sido associado à morte neuronal. No presente trabalho, avaliamos a expressão das isoformas 1 e 2 da superóxido dismutase (SOD1 e SOD2) e a atividade da óxido nítrico sintase (NOS) na intumescência lombar de ratos neonatos após secção do ciático e administração do antioxidante melatonina.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar com dois dias de vida (P2) foram submetidos a secção unilateral do ciático e sacrificados em P2, P3, P5 ou P7. Melatonina (M; 1mg/kg,sc) foi administrada 1h antes e imediatamente após a axotomia e 1 e 2h depois da lesão. De P3-P7, o tratamento foi diário (dose única). Controles receberam apenas veículo de diluição da melatonina (V) ou foram mantidos íntegros (I). Após coloração de Nissl, os MN do grupo ventrolateral do lado lesado (L) e normal (N) da intumescência lombar foram contados e calculou-se o índice de sobrevivência neuronal (ISN=L/N). A expressão da SOD1 e 2 foi detectada por imunoblot e estimada por análise densitométrica da intensidade das bandas. A atividade das isoformas cálcio-dependente (Cd) e independente da NOS foi determinada pelo método de conversão da [3H]L-Arginina em [3H]L-Citulina. Nos tempos estudados, utilizaram-se 5 (contagem e atividade) ou 3 (blot) ratos por grupo (M, V, I). Axotomia levou a perda gradual de MN, diminuiu em 25% a expressão da SOD1 ( $p < 0,01$ , vs M e I), não alterou a da SOD2 e nem a atividade da NOS. M reduziu em 75% a morte de MN em

P3 e P7 ( $p < 0.0001$ , vs V). Em P3, M aumentou em 25% a expressão de SOD1 ( $p < 0.01$ , vs V e I) e diminuiu em 60% a atividade da NOS Cd ( $p < 0.05$ , vs V e I).

**Conclusões:**

Nossos resultados mostram que, no presente modelo, a M exerce neuroproteção e atua como antioxidante indireto, aumentando a expressão da SOD1.

02.071

PAPEL DA VIA DE SINALIZAÇÃO TGF-BETA 1/SMAD NA TRANSFORMAÇÃO GLIA RADIAL-ASTRÓCITO. Stipursky, J.; Dezone, R. S.\*; Gomes, F. C. A. Anatomia ICB-CCS-UFRJ

**Objetivo:**

Durante a desenvolvimento do córtex cerebral os neurônios migram por fibras de glia radial (GR) (célula tronco neural) estabelecendo-se em camadas. Após a migração, a GR diferencia-se em astrócitos por um processo ainda pouco conhecido. Demonstramos que neurônios corticais induzem a diferenciação astrocitária através da secreção de TGF-beta 1 (fator de crescimento transformante- beta 1). O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito de fatores solúveis neuronais (MC) e do TGF-beta 1 na transformação da GR em astrócitos in vitro.

**Métodos e Resultados:**

Culturas de astrócitos corticais de camundongos neonatos (P0) foram mantidas em presença de neurônios embrionários (E14) por 24hs para a obtenção de meio condicionado (MC), rico em TGF-beta 1. Culturas de GR de camundongos embrionários (E14) foram mantidas por 24hs em DMEM/F12 com 10% de soro fetal bovino e após esse período, tratadas com TGF-beta 1 (10ng/mL), MC ou meio sem soro por 24hs. Posteriormente, as células foram analisadas por imunocitoquímica com anticorpos contra marcadores celulares específicos: GFAP (proteína ácida fibrilar glial, astrócitos), GLAST (transportador de glutamato, GR), beta Tubulina III (neurônios) e Nestina (células progenitoras). A identidade das culturas de GR foi confirmada pela marcação para GLAST. O tratamento das culturas de GR com MC e TGF-beta 1, promoveu um aumento de aproximadamente 2X e 1,5X respectivamente, do número de células GFAP+ (controle:8%; MC:17%; TGF-beta 1: 13%  $p < 0,05$ ). Simultaneamente, o número de células Nestina+ diminuiu (controle: 20%; MC: 9%; TGF-beta1: 11%;  $p < 0,05$ ). O tratamento com MC ou TGF-beta 1 aumentou o número de células com morfologia alongada característica do fenótipo de GR (controle:54%; MC:81%; TGF-b1: 73%;  $p < 0,05$ ). Esses eventos foram acompanhados pela translocação nuclear das proteínas SMADs 2/3, característica da ativação da via de TGF-beta 1.

**Conclusões:** Esses resultados sugerem que neurônios em migração influenciam a identidade e diferenciação da GR e apontam para a via de sinalização TGF-beta 1/SMADs como potencial moduladora da transformação GR-astrócito.

02.072

REGENERAÇÃO NERVOSA PERIFÉRICA ATRAVÉS DE PRÓTESES TUBULARES CONSTRUÍDAS A PARTIR DE MEMBRANAS DE CAPROLACTONA (PCL). <sup>1</sup>Pierucci, A. \*\*; <sup>2</sup>Duek, E. A. R.; <sup>1</sup>Oliveira, A. L. R. <sup>1</sup>Anatomia UNICAMP; <sup>2</sup>Engenharia de Materiais DEMA-UNICAMP

**Objetivo:**

Após uma lesão nervosa periférica, o reparo dos cotos proximal e distal pode ser realizado por diferentes técnicas, incluindo-se a tubulização. Esta consiste no implante de uma prótese tubular onde os cotos são introduzidos, realinhados e fixados. O objetivo do presente estudo foi desenvolver um novo método de construção da prótese tubular e comparar a sua eficiência com o método tradicional de extrusão, utilizando-se do PCL. Os resultados foram analisados empregando-se as técnicas de microscopia de luz, microscopia eletrônica de transmissão (MET) e microscopia eletrônica de varredura (MEV).

**Métodos e Resultados:**

Para a confecção das próteses tubulares utilizou-se o método da extrusão (TE), que consiste na fusão do polímero seguido de injeção num molde com dimensões pré-determinadas. No método ora proposto, denominado técnica do solvente (TS), o polímero foi solubilizado em dicloroetano, numa concentração final de 5%. Após a evaporação do solvente e obtenção de uma membrana, essa foi aplicada sobre um molde com diâmetro interno de 1,6mm. Ambas as próteses foram produzidas com comprimento de 10mm. As cirurgias de tubulização foram realizadas em ratos

Spreague Dawley, fêmeas adultas. Após 8 semanas de sobrevivência, os espécimes foram avaliados sob MET e MEV e o número de axônios foi contado (TE=1832,67±795,50; TS= 1502,00 ±901,95).

**Conclusões:**

Não houve diferença significativa do número de axônios regenerados nas duas técnicas de confecção do tubo, apesar da degradação do tubo, na técnica do solvente, ter sido acelerada. As diferenças observadas entre os métodos de construção das próteses tubulares revelaram que a técnica do solvente foi superior a da extrusão, sob os aspectos de espessura da parede do tubo e transparência da prótese, o que facilitou a visualização e orientação dos cotos durante a cirurgia.