

- Cronobiologia

10.001

EFEITO DA DISSOCIAÇÃO DO RITMO CIRCADIANO DA ATIVIDADE MOTORA PROVOCA NA MEMÓRIA EM RATOS. Araújo, J. F. Fisiologia UFRN

Objetivo:

Objetivos: Várias funções cognitivas são moduladas pelo sistema de temporização circadiano (STC). Neste trabalho estudamos desempenho de ratos albinos com dissociação do ritmo circadiano de atividade motora em um teste de esquiiva passiva.

Métodos e Resultados:

Métodos e Resultados: Um grupo de ratos albinos foi submetido a ciclo de claro-escuro com período de 24 h – CE 12:12 (grupo T24) e outro com período de 22 h – CE 11:11 (grupo T22). Após 50 dias, os animais foram testados em um campo aberto para avaliação da atividade exploratória por 5 minutos em duas sessões com intervalo de 24 ou 22 horas, e um teste de esquiiva passiva – "step down" para avaliação de memória. Na sessão de treino, os animais recebiam choques em suas patas de 0,5 mA, 2,0 seg, sendo testados 30 min (memória de curto prazo – MCP) e 24 ou 22 horas (memória de longo prazo – MLP) depois do treino. Todos os testes foram realizados no meio da fase escura. Todos os animais em T22 apresentaram dissociação, com a expressão de dois componentes circadianos, um com período de 1320 min e um outro com período de 1490 min. Os animais em T22 apresentaram pior desempenho no teste de esquiiva 30 min após o treino – MCP ($X^2=7,563$; $p=0,006$) mas não no teste 24 h depois do treino – MLP, quando comparados com o grupo T24 (Teste Kruskal Wallis). Não foi observado diferença estatisticamente significativa na atividade exploratória entre os animais que aprenderam e não aprenderam.

Conclusões:

Conclusão: Nossos resultados sugerem que a dissociação do ritmo circadiano de atividade motora em ratos provoca um déficit na memória de curto prazo.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERN, PPPq-UFRN

10.002

PROJEÇÕES RETINIANAS DO MOCÓ (*KERODON RUPESTRIS*): NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO E FOLHETO INTERGENICULADO. ¹Nascimento Jr., E. S.; ¹Cavalcante, J. S.; ¹Araújo, J. F.; ²Silva, S. F.; ³Souza, A. P. M.; ³Alves, F. C. F.; ⁴Britto, L. R. G.; ³Costa, M. S. M. O. ¹Fisiologia, UFRN; ²Anatomia Universidade Potiguar; ³Morfologia UFRN; ⁴Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

Objetivo:

O sistema de temporização circadiana tem três componentes essenciais: um relógio ou marcapasso, vias de entrada e vias de saída. Muitas linhas de evidência confirmam que o núcleo supraquiasmático (NSQ), um núcleo par, retino-recipiente, do hipotálamo anterior, exerce o papel de marcapasso regulador dos ritmos circadianos em mamíferos. O folheto intergeniculado (FIG) é um par de núcleos do complexo geniculado lateral talâmico, que também recebe fibras da retina e se projeta sobre o NSQ, atuando como modulador do marcapasso. Este trabalho teve como objetivo verificar o padrão das projeções retinianas no NSQ e no FIG do cérebro de um roedor da região do Nordeste brasileiro, o mocó (*Kerodon rupestris*).

Métodos e Resultados:

Três (03) mocós foram submetidos a uma injeção intraocular da subunidade B da toxina colérica (CTb) e em seguida foram perfundidos transcardiacamente com uma solução de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M, pH7,4. Os encéfalos foram retirados e submetidos a microtomia por congelamento, obtendo-se seções coronais de 30 μ m. Em seguida, os cortes foram submetidos a imuno-histoquímica para revelação da CTb transportada anterogradamente, com a finalidade de detectar os alvos da projeção retiniana. O exame microscópico em campos claro e escuro mostrou que terminais imunorreativos a CTb estão presentes no NSQ bilateralmente, com predominância contralateral, exibindo uma maior concentração na região ventral do núcleo. No FIG a projeção retiniana é bilateral, embora com predominância contralateral, com a projeção contribuindo para a delimitação citoarquitetônica do núcleo.

Conclusões:

O padrão da inervação retiniana do NSQ e do FIG no mocó apresenta semelhanças e diferenças com relação ao encontrado em outros roedores, o que provavelmente reflete diferenças funcionais entre as espécies estudadas.

10.003

TOPOGRAFIA DE TERMINAIS SEROTONÉRGICOS E RECEPTORES DE SEROTONINA NO NÚCLEO SUPRAQUIASMÁTICO DO SAGÜI (*CALLITHRIX JACCHUS*): UM ESTUDO IMUNOHISTOQUÍMICO. ¹Cavalcante, J. S.; ²Rebouças, I. X. C. R.*; ²Pontes, A. L. B.*; ²Duarte, R. B.*; ²Costa, M. S. M. O.; ³Toledo, C. A. B. ¹Fisiologia UFRN; ²Morfologia UFRN; ³Fisiologia UNICID

Objetivo:

O sistema de temporização circadiano no cérebro de mamíferos tem como principal marca-passo o núcleo supraquiasmático (NSQ) do hipotálamo. Uma via serotonérgica, proveniente da rafe, que incide sobre este núcleo desempenha papel importante na modulação dos ritmos circadianos. O objetivo deste estudo foi detectar no NSQ a presença de terminais de serotonina e dos receptores 5HT_{1A}, 5HT_{1B} e 5HT_{2C} através da técnica imunohistoquímica.

Métodos e Resultados:

Sagüis adultos foram anestesiados, perfundidos com solução de paraformaldeído a 4%, e os cérebros submetidos a microtomia por congelamento. Secções que compreendiam o NSQ foram submetidas a imunohistoquímica (Protocolo ABC) para serotonina (5HT) e os receptores supracitados. Fibras/terminais imunorreativos à 5HT (5HT-IR) foram encontradas no NSQ evidenciando-se uma concentração centro-dorsal no núcleo. Foi detectada a presença dos receptores 5HT_{1A} e 5HT_{1B} com o mesmo padrão de localização das fibras 5HT-IR. O receptor 5HT_{2C} não foi encontrado.

Conclusões:

A imunorreatividade a 5HT encontrada em fibras/terminais no NSQ do sagüi pode representar a chegada a essa estrutura de uma gama de informações sensoriais que estariam envolvidas na modulação da sincronização do relógio circadiano. Considerando a sobreposição da imunorreatividade das fibras/terminais 5HT-IR e dos receptores, podemos supor que as ações mediadas por este neurotransmissor envolvem diferentes subtipos de receptores, entre os quais 5HT_{1A} e 5HT_{1B}.

10.004

RESPOSTAS COMPORTAMENTAIS NO TESTE DE LABIRINTO EM CRUZ ELEVADO E NO TESTE DE NADO FORÇADO EM RATOS COM DISSOCIAÇÃO DO RITMO CIRCADIANO DA ATIVIDADE MOTORA. Araújo, J. F. Fisiologia UFRN

Objetivo:

Alterações na ritmicidade circadiana provoca alterações no estado afetivo, tais como em situações de trabalho em turnos, Jet Lag etc. Neste trabalho estudamos respostas comportamentais em modelos animais de ansiedade e de depressão em ratos albinos com dissociação do ritmo circadiano de atividade motora.

Métodos e Resultados:

Um grupo de ratos albinos foi submetido a ciclo de claro-escuro com período de 24 h – CE 12:12 (grupo T24) e outro com período de 22 h – CE 11:11 (grupo T22). Os animais foram testados em um campo aberto para avaliação da atividade exploratória, em um labirinto em cruz elevado e no teste de nado forçado. Os testes tiveram uma duração de 5 minutos em duas sessões, pré-teste e teste, com intervalo de 24 ou 22 horas. Os testes foram realizados em dias diferentes e no meio da fase escura do CE12:12 ou CE11:11. Todos os animais em T22 apresentaram dissociação, com a expressão de dois componentes circadianos, um com período de 1320 min, e um outro com 1490 min. O teste de campo aberto mostrou que os animais em T22 apresentaram maior atividade exploratória, número de quadrantes, (T24 = 54,7 ± 18,1 e T22 = 77,2 ± 29,2; t=2,1, p=0,048). A porcentagem de tempo nos braços abertos no teste de labirinto (T24=2,1 ± 2,7% e T22=6,3 ± 7,9%; t=1,7, p=0,112) e a latência de imobilização no teste de nado forçado (T24=12,2 ± 9,1 seg e T22=24,8 ± 30,3 seg; t=1,4, p=0,199) não mostraram diferenças estaticamente significantes entre o grupo T24 e o grupo T22.

Conclusões:

Conclusão: Os resultados mostraram que há não alterações comportamentais no teste labirinto em cruz elevado e no nado forçado em ratos com dissociação do ritmo circadiano da atividade motora, sugerindo que a dissociação não afeta comportamentos relacionados com a ansiedade e depressão neste modelo animal utilizado.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERN, PPPq-UFRN

10.005

VARIAÇÃO CIRCADIANA DA EMISSÃO DE COMPORTAMENTOS INDICADORES DE ANSIEDADE DO RATO NO *ENDLESS MAZE*. ¹Mutton, M. R.; ¹Ferreira, K. L.*; ¹Pedrozo, L. A. R.*; ²Hoshino, K.; ¹Psicologia UNESP-Bauru; ²Biologia UNESP-Bauru

Objetivo:

avaliar se os índices de locomoção, a frequência dos episódios de conferência de altura e episódios do comportamento de limpeza apresentam variação circadiana

Metodologia e Resultados:

Grupos de dez ratos Wistar machos da linhagem BTU, com 400-600 gramas, foram avaliados no *endless maze* no período da manhã (10-12 h), da tarde (14-16 h) e à noite (20-22h). Somente a emissão do comportamento de conferência de altura mostrou ser significativamente ($F=4,28$; $p=0,032$) maior à noite (média \pm s35,3 \pm 6,4) comparativamente à emissão da tarde (18,5 \pm 3,3), período em que se verifica a menor frequência deste parâmetro.

Conclusões:

O uso do *endless maze* deve considerar a hora do dia em que as medidas são realizadas. A maior emissão noturna do comportamento de conferência de altura é compatível com o período de atividade noturna da espécie.

10.006

O ATRASO DE FASE DA ADOLESCÊNCIA REVISITADO: INFLUÊNCIA DO CONTEXTO SÓCIO-CULTURAL. Silva, A. G. T.; Kasperski, A. P.; Louzada, F. M. Fisiologia UFPR

Objetivo:

Na espécie humana, ocorrem alterações nas características do CVS durante o desenvolvimento. É verificado um atraso de fase no CVS concomitante com o desenvolvimento puberal, o qual é influenciado por fatores biológicos e sociais. Esse trabalho tem como objetivo verificar a existência de associação entre idade e horários de dormir para identificar possíveis influências do contexto sócio-cultural na expressão do atraso de fase na adolescência.

Métodos e Resultados:

Foi aplicado questionário de hábitos de sono em adolescentes, com idade entre 10 e 17 anos, de 5 populações: uma urbana, da cidade de São Paulo (população 01) e quatro rurais, das cidades de Piracicaba, SP (população 02), e Ubatuba, SP (população 03); Bocaiúva do Sul, PR (população 04) e Campina Grande do Sul, PR (população 05). A partir do questionário, foram obtidos os horários de dormir e acordar nos finais de semana, que refletiriam a preferência dos adolescentes. Foi realizada análise de correlação entre estes dados e a idade dos participantes. As tabelas abaixo mostram o resultado da análise de correlação de Spearman entre as idades e horários de dormir e de acordar dos sujeitos nos finais de semana.

Horário de dormir nos fins de semana

Horário de acordar nos fins de semana

POPULAÇÃO

n

R

p

01

219

0,25

$P < 0,001$

02

87

0,04
ns
03
120
-0,14
ns
04
226
0,03
ns
05
256
0,05
ns
POPULAÇÃO
n
R
p
01
219
0,19
p< 0,01
02
87
0,12
ns
03
120
-0,13
ns
04
226
-0,06
ns
05
256
-0,04
ns

Conclusões:

Os resultados mostram a existência de correlação positiva entre horários de sono e idade apenas na população urbana. Esta correlação reflete o atraso de fase característico desta faixa etária. Entretanto, a mesma correlação não foi observada em nenhuma das populações rurais, sugerindo uma influência do contexto sócio-cultural na expressão dessa característica.

10.007

DIFERENÇAS DE GÊNERO NO RITMO DE VARIAÇÕES DO TEOR DE SEROTONINA EM ÁREAS ENCEFÁLICAS DE RATOS. ¹Pinato, L.; ¹Frazão, R^{**}; ²Souza, S. L.; ³Ferreira, Z. S.; ³Markus, R. P.; ¹Rocha, V. A.; ¹Nogueira, M. I.; ¹Anatomia ICB III-USP; ²Anatomia UFPE; ³Fisiologia IB-USP

Objetivo:

Os núcleos da rafe e o sistema serotoninérgico têm sido relatados como envolvidos na modulação de ritmos biológicos. Conforme citado em Pinato *et al.*, 2004 há variação bimodal no conteúdo de 5-HT em todos os núcleos da rafe, de ratos machos, ao longo do dia, com os menores níveis observados ao redor das 5:00h e 17:00h e os níveis mais altos observados às 13:00h e 21:00h. O objetivo deste estudo foi investigar variações rítmicas no conteúdo de serotonina (5-HT) nos núcleos da rafe de ratas e compará-lo com o padrão encontrado em ratos machos.

Métodos e Resultados:

Foram utilizadas 30 ratas Wistar (2 meses), mantidas em condições padronizadas e ciclo claro escuro 12/12h com luzes acesas às 7h. Os animais foram divididos em 6 grupos e decaptados ao longo do dia nos seguintes horários: 5:00h, 13:00h, 17:00h, 19:00h, 21:00h e 1:00h. Após a decaptação, os encéfalos foram removidos sendo microdissecados os núcleos da rafe (RPa, ROb, RMg, PnR, MnR/PMnR, DR, RLi/CLi) e o núcleo supraquiasmático (NSQ). As dosagens dos conteúdos (ng/g) de serotonina foram realizadas pelo método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Com exceção do núcleo RMg, os demais núcleos apresentaram ritmo no conteúdo de 5-HT ao longo do dia. Nos núcleos RPa, ROb, MnR, DR, RLi/CLi e NSQ as maiores concentrações foram encontradas nos grupos 5:00h, 13:00h e 17:00h, com queda gradativa às 19:00h (grupo decaptado 5 min antes do apagar das luzes) e os menores valores às 21:00h. Já o núcleo PnR apresentou os maiores valores às 5:00h, 17:00h e 19:00h e os valores mais baixos às 13:00h e as 21:00h.

Conclusões:

O ritmo diário do teor de serotonina nos núcleos Pálido, Obscuro, Dorsal e Linear da rafe em ratas apresenta padrão invertido em relação ao de ratos machos da mesma linhagem, idade e peso corporal.

10.008

RITMO CIRCADIANO DE MUDANÇA DE COR FISIOLÓGICA NO ANFÍBIO *BUFO ICTERICUS* MANTIDO EM DIFERENTES FOTOPERÍODOS. Filadelfi, A. M. C.; Vieira, A.; Louzada, F. M.; Fisiologia UFPR

Objetivo:

A mudança de cor e a ritmicidade biológica são fenômenos adaptativos para vários animais e anfíbios podem apresentar empalidecimento noturno devido à secreção de melatonina (J. Pineal Res. 5:87, 1988). Porém são raros os estudos sobre alterações de cor com abordagem cronobiológica. O objetivo deste trabalho foi caracterizar o ritmo (sincronizado e em livre-curso) de mudança de cor fisiológica do anfíbio *Bufo ictericus*, submetido a diferentes regimes fotoperiódicos.

Métodos e Resultados:

Machos adultos de *B. ictericus* (100g) foram mantidos em terrários individuais, cobertos com vidro, em sala isolada, sob controle de fotoperíodo e temperatura ($23 \pm 2^\circ\text{C}$). A iluminação foi feita com lâmpadas de 40W (2m acima dos terrários – fase de claro) e infra-vermelha (fases de claro e escuro). Após 7 dias de aclimação prévia em CE12:12, os sapos foram submetidos a: (1) CE12:12; (2) CE14:10; (3) EE (n=12); (4) CC (n=6). A partir do 6º dia desses tratamentos mediu-se a reflectância (reflectômetro Photovolt) da pele dorsal dos sapos a cada 3h, por 72h, gerando 3 séries de 8 dados diários, analisados pelo método do Cosinor. Os valores de reflectância exibiram oscilações circadianas significativas nos regimes (1), (2) e (3), mas não em (4), com os seguintes valores de acrofase, amplitude e mesor: (1) 10:48; 2,5; 48; $p < 0,05$; (2) 05:06; 2,8; 54; $p < 0,001$; (3) 04:12; 1,8; 42; $p < 0,005$; (4) 02:24; 5,7; 53; $p > 0,05$. Os dados sugerem que *B. ictericus* exibe um efetivo ritmo circadiano de mudança de cor, com redução de amplitude em livre-curso (DD). A condição fotoperiódica CC possivelmente foi não permissiva para a expressão rítmica. As acrofases talvez ocorram após ação prévia de melatonina e os maiores valores de mesor parecem estar associados a uma maior exposição total à luz.

Conclusões:

B. ictericus exibe ritmo circadiano de mudança de cor, mantido em livre-curso. Esta é possivelmente a primeira caracterização deste ritmo em anfíbios.

10.010

BIOLOGICAL RHYTHMS OF BIOCHEMICAL SERUM PARAMETERS IN A BRAZILIAN A POPULATION: A THREE-YEAR STUDY. ¹Dalpino, F. B.**; ¹Castanho, V.; ³Menna-Barreto, L.; ¹Faria, E. C.; ¹Patologia Clínica FCM-UNICAMP; ²Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

Objetivo:

A marked decrease in analytical and post-analytical variability has taken place in clinical laboratories with automated analytical systems. Studies are now focused on the origin of pre-

analytical errors, mainly the intra-individual biological components. In this study the occurrence of biological rhythms in several biochemical serum parameters in a Brazilian adult population was evaluated. We also looked into sex and age effects on the presence of rhythms.

Métodos e Resultados:

A retrospective study was carried out to collect the test results within the reference intervals of adult individuals (21 to 50 years old) assisted at the outpatient clinics of the Teaching Hospital at the University of Campinas, São Paulo, during the years of 1996 to 1998. The biochemical parameters analyzed and the total number of exams performed were: 53.641 for urea, 58.315 for creatinine, 6.433 for uric acid, 15.036 for calcium and 7.478 for phosphorus, totalizing 140.903 measurements. Parametric statistical analyses were carried out through the SAS. Cosinor method was applied to the time series. The population comprised 52.9% males and 47.1% females with a mean age for a three-year period equal to 36 years. A significant seasonal rhythm with a 12-month period was observed in serum calcium, $p \leq 0.001$, with maximum and minimum values in fall and in spring respectively, and in serum creatinine, $p \leq 0.002$, with maximum and minimum values in summer and in winter respectively. The other parameters did not present significant circannual rhythmicity.

Conclusões:

The biological rhythms in dosages of serum calcium and creatinine should be considered a significant cause of pre-analytical variation of these laboratory tests.

10.011

ORGANIZAÇÃO TEMPORAL EM APRENDIZADO NÃO ASSOCIATIVO: SENSITIZAÇÃO DO SOBRESSALTO ACÚSTICO EM POMBOS. ¹Siqueira, L. O.*; ²Vieira, A. S.; ³ Ferrari, E. A. M. Fisiologia e Biofísica IB-UNICAMP

Objetivo:

A apresentação de estimulação aversiva pode resultar em aumento da magnitude de respostas ao som que é referido como sensitização. O sobressalto acústico e a sua sensitização podem variar ao longo do dia, sugerindo modulação do sistema de ritmicidade circadiana. O presente estudo amplia investigações prévias sobre a variação da sensitização da resposta acústica em pombos ao longo do período de 24h.

Métodos e Resultados:

Foram utilizados pombos, machos, adultos atribuídos a Grupo Experimental GE (n=42) e Grupo Controle GC (n=36). Cada grupo foi dividido em 6 subgrupos conforme o horário do teste: 4h, 8h, 12h, 16h, 20h, 24h. Todos animais passaram por 4 dias de habituação à caixa experimental. Após 4 sessões de habituação à caixa experimental, o procedimento para o GE consistiu em (a) determinação da linha de base da amplitude da resposta, com apresentação de 5 estímulos acústicos (1000Hz, 100dB, 1s) a cada 30s; (b) treino, iniciado 1 min após o último som, com apresentação de dois choques elétricos (10mA, 1s), intervalo entre choques de 1 min e (c) teste, iniciado 1 min após o último choque, com apresentação de 40 estímulos acústicos. Os animais dos grupos controles permaneceram na caixa experimental por 25 min sem que nenhum estímulo fosse apresentado. A amplitude da resposta foi registrada automaticamente em kgf. A sensitização foi medida como o aumento da amplitude da resposta no teste em relação à amplitude da resposta durante a linha de base. Os resultados indicaram variação da amplitude da resposta nos diferentes horários, com pico em 20h. ANOVA indicou efeito significativo de grupo [$F_{1,5} = 111,25$; $p < 0,0001$], de horário [$F_{5,1} = 5,57$; $p < 0,0001$] e uma interação significativa entre grupos e horários [$F_{5,1} = 3,08$; $p < 0,001$].

Conclusões:

Esses resultados indicaram uma variação da amplitude da resposta reflexa ao som, ao longo do período de 24 h sugerindo uma modulação do sistema circadiano nesse processo de aprendizagem.

10.012

INFLUÊNCIA DO ISOLAMENTO SOBRE A MATUREZA DO RITMO ATIVIDADE E REPOUSO DE RATOS ALBINOS. Turcato, G.*; Luchesi, L. C.*; Andrade, M. M. M.; Ciências Biológicas UNESP-Assis

Objetivo:

Avaliamos se a maturação do ritmo de atividade e repouso era influenciada pelo isolamento, comparando ratos de duas ninhadas mantidos em duplas de irmãos (n=4) ou isolados (n=4).

Métodos e Resultados:

Os animais foram alojados sob ciclo CE 12:12h, a $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, com comida e água *ad libitum*, e filmados por 72h contínuas nos 1º e 3º meses de vida. Os comportamentos analisados foram: repouso e atividade (comer, beber, exploração do meio, auto-limpeza e interação social). A duração dos comportamentos nas 24h seguiu uma hierarquia mudando pouco com a idade, mesmo com o aumento da auto-limpeza ($11,9\% \pm 2,2$ vs $17,6\% \pm 5,2$), e a redução da exploração do meio ($19,3\% \pm 2,2$ vs $15,2\% \pm 2,1$) e comer ($10,7\% \pm 3,1$ vs $5,6\% \pm 1,4$) teste de Wilcoxon, $T=0$, $p=0,012$. Os animais das duplas passaram mais tempo explorando o meio do que os isolados no 3º mês de vida (teste U de Mann Whitney, $U=1$, $p=0,04$). Os isolados despenderam mais tempo em auto-limpeza nos 1º e 3º meses de vida ($U=1$, $p=0,04$ e $U=0$, $p=0,02$). Detectamos a presença simultânea de períodos circadiano e ultradianos do ritmo de atividade e repouso de todos os animais. No 1º mês, os períodos mais potentes foram: 4,8h, 8h, 12h e 24h, no 3º mês somente o de 24h. Com a maturação, a potência do ritmo circadiano (809 ± 283 vs 2329 ± 704 ; $T=0$, $p=0,012$) e a proporção entre a potência do circadiano/ potência total aumentaram ($9,3\% \pm 2,8$ vs $25,3\% \pm 6,4$; $T=0$, $p=0,012$). No 1º mês, animais das duplas mostraram maior potência total (9494 ± 794 vs 8079 ± 730 ; $U=1$, $p=0,04$) e animais da ninhada B maior potência do ritmo circadiano (1045 ± 181 vs 574 ± 76 , $U=0$, $p=0,02$) e a proporção potência circadiano/potência total ($11,3\% \pm 2,3$ vs $6,9\% \pm 0,4$, $U=0$, $p=0,02$). A fase do ritmo circadiano não se alterou com a idade, tipo de alojamento ou ninhada.

Conclusões:

O aumento da potência do período de 24 horas indica a maturação do sistema biológico. O tipo de alojamento e a ninhada modificaram o padrão desenvolvimento comum a todos os animais. A velocidade de consolidação do ritmo circadiano foi dependente da origem da ninhada o que sugere haver um estímulo de um animal sobre o outro, da mãe sobre os filhotes e/ou da herança genética.

10.013

EFEITO TEMPORAL NO CONDICIONAMENTO DE LUGAR EM PRIMATAS (*CALLITRIX JACCHUS*). Valentinuzzi, V. S.; Pacheco, S. D.*; Carneiro, B. T. S.*; Santana, K.*; Araújo, J. F. Fisiologia UFRN

Objetivo:

Este trabalho pretende avaliar o processo de condicionamento de lugar em sagüis, utilizando a associação entre um reforço positivo e a forma geométrica do ambiente. Nesta tarefa o animal aprende a preferir um contexto em detrimento de outro, após associar esse contexto a uma experiência agradável.

Métodos e Resultados:

Vinte sagüis foram treinados utilizando duas caixas experimentais, uma tinha o formato de um quadrado e a outra de um triângulo. Foram 8 dias de treino de 10 minutos cada. Durante os treinos um dos contextos sempre tinha um reforço positivo (um de vários alimentos muito apreciados); Este era o contexto com reforço (CR). Enquanto que o outro contexto nunca tinha nada dentro (Contexto sem reforço; SR). Durante os testes os animais foram subdivididos em 4 subgrupos: dois testados no mesmo horário que os treinos (MM e TT) e dois em que os testes eram em horários diferentes (MT e TM). O teste consistia em apresentar os dois contextos sem reforço algum. A interação do animal com os contextos era avaliada registrando todos tipo de contatos físicos com os mesmos (subir, entrar, tocar, marcar). Os resultados mostraram que os sagüis aprendem a tarefa. Isto foi revelado no dia do teste pela maior frequência de interações (14 contatos no CR vs. 7 no SR) assim como o maior tempo de contato com o contexto reforçado (4 minutos no CR vs. 2 no SR). Adicionalmente, utilizando a diferença entre a frequência de interações entre CR e SR, observou-se que não haviam diferenças entre os subgrupos (MM, MT, TT, TM, ANOVA, $F=2,0$, $p=0,164$). Encontramos uma diferença significativa quando comparamos os animais que foram testados no mesmo horário (MM+TT) e em horários diferentes (MT+TM) (Teste T; $t=2,60$, $p=0,020$).

Conclusões:

Estes resultados confirmam que esta espécie de primata aprende a tarefa de condicionamento de lugar e que o desempenho na mesma é afetada pela hora do dia em que os animais são treinados e testados.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERN

10.014

COMPONENTES RÍTMICOS NA APRENDIZAGEM E MEMÓRIA EM ABELHAS *MELIPONA QUADRIFASCIATA* E SUAS HIPOTÉTICAS RELAÇÕES COM AMINAS BIOGÊNICAS E HORMÔNIO JUVENIL Loli, D.; Bicudo, J. E. P. W. IB-USP

Objetivo:

Por meio do paradigma do Reflexo de Extensão da Probóscide (R.E.P.) (*J Comp Physiol* 97: 107-19, 1983), abelhas (insetos heterotérmicos) podem aprender a associar um odor com uma recompensa (sacarose). O objetivo deste trabalho é o estudo de componentes rítmicos na aprendizagem e memória de abelhas, para posterior integração com os efeitos de aminas biogênicas, hormônio juvenil e motivação, sobre a taxa metabólica e termogênese em insetos.

Métodos e Resultados:

Foi utilizado o clássico condicionamento por R.E.P., com abelhas forrageiras de *Melipona quadrifasciata*, mantidas em temperatura constante (25°C), coletadas em horários determinados (6h, 9h, 12, 15h, 18h). Após o jejum de 3 horas, cada abelha foi submetida a ensaios de R.E.P., com soluções de sacarose 30 e 60%, ao longo de 24 horas, em dias diferentes. Como controles, foram utilizados animais nas mesmas condições, mas sem a apresentação do odor. Com a sacarose mais concentrada (60%), a aprendizagem por REP ocorreu em menos tempo após a coleta, mas em menor repetibilidade. Ocorre variação diária na aprendizagem e memória: abelhas coletadas de manhã apresentam a primeira resposta ao odor (sem apresentação de sacarose, "aprendizagem") das 9h às 15h, e as coletadas de tarde "aprendem" na manhã do dia seguinte. Algumas abelhas não manifestam o comportamento de aprendizagem a noite, quando em condições naturais elas poderiam apresentar um estado semelhante a "sono". A responsividade à sacarose, a aprendizagem e memória em abelhas podem sofrer influências de hormônio juvenil (*Hormones and Behavior* 40:403-8, 2001) e aminas biogênicas (*J Neurosci* 23(12): 5370-80, 2003). Um animal "motivado" aumenta sua taxa metabólica (*J Comp Physiol A* 186: 299-306, 2000) e temperatura torácica (*J Insect Physiol* 46: 1187-94, 2001). Pretendemos realizar experimentos adicionais, com hormônio juvenil, octopamina e bloqueadores "adrenérgicos", envolvidos na aprendizagem, consolidação da memória e termogênese.

Conclusões:

Em abelhas, a concentração da solução de sacarose pode influenciar a aprendizagem por R.E.P. e ocorre variação diária na aprendizagem e memória.

10.015

PROTEÍNAS LIGANTES DE CÁLCIO NOS CENTROS CIRCADIANOS DO MOCÓ (*KERODON RUPESTRIS*). ¹Costa, M. S. M. O.; ²Nascimento Jr., E. S.*; ³Silva, S. F.; ⁴Magalhães, M A F**;
¹Duarte, R. B.*; ¹Rebouças, I. X. C. R.*; ¹Pontes, A. L. B.* ⁴Cavalcante, J. S.; ¹Morfologia UFRN;
²Fisiologia UFMG; ³Morfologia Universidade Potiguar; ⁴Fisiologia, UFRN

Objetivo:

O núcleo supraquiasmático (NSQ) do hipotálamo e o folheto intergeniculado (FIG) do tálamo constituem os principais centros circadianos em mamíferos. Estes centros são caracterizados por um perfil neuroquímico que inclui a presença de proteínas ligantes de cálcio, às quais se atribui o papel de tamponadoras do cálcio intracelular, no citoplasma de suas células. Considerando a variabilidade entre as espécies, o presente trabalho teve como objetivo verificar o padrão de distribuição de três destas proteínas, calbindina (CB), cal-retinina (CR) e parvalbumina (PV), no NSQ e no FIG do mocó, um roedor típico da região Nordeste.

Métodos e Resultados:

Dois (2) mocós adultos foram perfundidos transcardiacamente com uma solução de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M, pH 7,4. Os encéfalos foram retirados da cavidade craniana e submetidos a microtomia por congelamento, obtendo-se secções de 30µm em 6 séries. Três séries de secções foram submetidas a imuno-histoquímica, uma dirigida a CB, outra a CR e

outra a PV. No NSQ foram observados neurônios imunorreativos a CB e a CR preenchendo todos os limites citoarquitetônicos do núcleo e raras células imunorreativas a PV. No FIG foram visualizadas células imunorreativas a CB e a CR contrastando com a total ausência de PV neste núcleo.

Conclusões:

O padrão de distribuição das proteínas ligantes de cálcio nos centros circadianos do mocó é semelhante ao encontrado em outros roedores. Entretanto, difere pela presença de pericários positivos para PV no NSQ.

10.016

ANÁLISE DA EXPRESSÃO CÍCLICA DA PROTEÍNA S100b E DOS RECEPTORES 5-HT1A NO HIPOCAMPO DE RATOS. Campos, L. M. G.; Allemandi, W.^{**}; Takada, S. H.; Azmitia, E. C.; Nogueira, M. I. Anatomia ICB III-USP

Objetivo:

A proteína S100b pertence à família de proteína ligantes de cálcio e age como um fator neurotrófico, promovendo a maturação e crescimento dos neuritos durante o desenvolvimento, sendo responsável ainda pela regeneração e plasticidade neural em fibras serotoninérgicas no cérebro de ratos adultos. Sua liberação é feita pelas células gliais através da ativação do receptor serotoninérgico 5-HT1A. O objetivo desse estudo é analisar a presença e expressão rítmica da proteína S100b e do receptor serotoninérgico 5-HT1A em diferentes regiões do hipocampo de ratos machos e fêmeas (stratum oriens, stratum radiatum, stratum moleculare, e hilus), em horários pré-determinados. Para tanto, foi adotada a técnica de perfusão transcardíaca com solução salina e em seguida com paraformaldeído 4% (pH 7.4). A metodologia empregada foi a técnica de imunohistoquímica ABC-DAB para o receptor 5-HT1A e a proteína S100b.

Métodos e Resultados:

A análise quantitativa das camadas demonstrou que, em ratos machos, ocorre pico da expressão da proteína S100b às 21:00 h, enquanto que nas fêmeas o pico ocorre às 5:00 h, o padrão se mantém nas várias camadas analisadas. O valor mínimo da expressão dessa proteína ocorre às 13:00 h em ratos machos; nas fêmeas o valor mínimo encontrado se dá às 21:00 h. Interessante é observar que o pico da expressão de 5HT1A é inverso ao da expressão de S100b tanto em machos quanto em fêmeas.

Conclusões:

Este estudo demonstrou que há diferença de gênero na expressão dessas moléculas.

10.017

INFLUÊNCIA DO TRACTO RETINO-HIPOTALÂMICO NA DETERMINAÇÃO DO TAU DA ATIVIDADE LOCOMOTORA EM CAMUNDONGOS. ¹Santos, J. W. Q.; ²Araújo, J. F.; ¹Souza, A. P. M.; ¹Alves, F. C. F.; ¹Costa, M. S. M. O. ¹Morfologia UFRN; ²Fisiologia UFRN

Objetivo:

Neste estudo foi verificada a influência da retina sobre o núcleo supraquiasmático na manutenção do período (tau) da atividade locomotora em camundongos.

Métodos e Resultados:

Camundongos Swiss nascidos em claro escuro (CE) ambiental foram enucleados bilateralmente em P0 (n = 2), P5 (n = 2), P10 (n = 2) e P180 (n = 1) Outros permaneceram intactos (n = 6). No 40^o dia pós-natal, os enucleados P0, P5 e P10 foram colocados em gaiolas individuais com sensores infravermelhos conectados ao sistema de registro da atividade locomotora, em CE 12:12h. Os animais intactos e o enucleado em P180 permaneceram em CE e após atingirem sincronização estável, foram transferidos para escuro constante (EE). O período em livre curso foi medido pelo periodograma. Todos os animais intactos em CE apresentaram sincronização do ritmo de atividade locomotora e em EE exibiram ritmo circadiano em livre curso com o tau menor do que 24 horas. Já os animais enucleados apresentaram o tau maior do que 24 horas em todas as idades de enucleação.

Conclusões:

Estes resultados sugerem que a expressão do período do ritmo circadiano de mamíferos é dependente da presença de uma retina intacta, mesmo após o completo amadurecimento do relógio na idade adulta.

10.018

MELANOPSINA NA CÉLULA PIGMENTAR DE AVES. Lima, L. H. R. G; Isoldi, M. C.; Visconti, M. A.; Castrucci, A. M. D. L. Fisiologia IB-USP

Objetivo:

O estudo da dispersão de grânulos de pigmento em resposta a estímulo luminoso em melanóforos de *Xenopus laevis* resultou na descoberta de uma opsina que foi batizada de melanopsina (Neurobiol. Vol.95, 340:345, Jan. 1998). Assim como as opsinas de vertebrados, a melanopsina apresenta a estrutura de sete domínios transmembrânicos de receptores acoplados a proteína G (GPCRs). Porém, assemelha-se mais às opsinas de invertebrados, em que o sítio de interação com retinaldeído é um resíduo aromático, enquanto em vertebrados, o sítio de ligação é um resíduo ácido. O presente trabalho objetivou analisar a presença desta opsina em melanócitos de *Gallus gallus*.

Métodos e Resultados:

Culturas primárias de melanócitos de *Gallus gallus* foram obtidas a partir do isolamento do tubo neural de embriões de três dias. O tubo neural foi cortado em 2 ou 3 pedaços, que foram transferidos para 2ml de meio F-10, suplementado com 10% de soro fetal bovino e 1% de antibiótico/fungicida, em frascos de cultura de 25cm², mantidos em estufa úmida com 5% de CO₂, a 37° C, para a migração de melanócitos para o frasco. Após 48h os pedaços de tubo neural foram removidos, e o meio trocado por F-10 contendo 10% de soro fetal bovino, éster de forbol 10⁻⁸M (TPA) e 200nM de bFGF, pH 7,2, meio no qual as células foram mantidas a partir de então. A troca de meio foi feita 3 vezes por semana. Nos melanócitos foi demonstrada pela primeira vez a expressão de melanopsina por meio de PCR, clonagem e sequenciamento, e a presença da proteína confirmada por imunocitoquímica.

Conclusões:

A presença de melanopsina nas células pigmentares de *Gallus gallus* abre a possibilidade para estudos que possam determinar qual a função desta opsina na fisiologia da célula pigmentar, assim como levanta a possibilidade da própria célula pigmentar se constituir em um sistema circadiano periférico.

10.019

BUSCA DE POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES ENTRE POLIMORFISMOS EXISTENTES NO GENE *HIOMT* (HIDROXINDOL-O-METILTRANSFERASE) COM A SÍNDROME DE FASE ATRASADA DO SONO (SFAS) E COM A PREFERÊNCIA DIURNA EM HUMANOS. ¹Pereira, D. S.; ¹Pedrazzoli, M.; ¹Lopes, A. R.; ¹Benedito-Silva, A. A.; ²Louzada, F. M.; ³D'Almeida, V.; ¹Tufik, S. ¹Psicobiologia, UNIFESP; ²Fisiologia UFPR; ³Pediatria, UNIFESP

Objetivo:

A enzima HIOMT participa da etapa precursora da formação da melatonina, convertendo a N – acetilserotonina em melatonina. As enzimas que fazem parte da via de síntese da melatonina também são reguladas pelo sistema de temporização circadiano nos núcleos supraquiasmáticos do hipotálamo e, portanto, alterações nos genes que codificam estas enzimas podem ser importantes na regulação de fenótipos circadianos. Assim, este estudo tem por objetivo procurar polimorfismos e/ou mutações nos 9 éxons do gene *Hiomt* tentando encontrar alguma associação com a preferência diurna em humanos e também com a patogênese da SFAS.

Métodos e Resultados:

Neste estudo serão utilizados 17 pacientes diagnosticados com SFAS pelo Instituto do Sono da UNIFESP, 30 indivíduos matutinos e 30 indivíduos vespertinos segundo o questionário descrito por Horne & Östberg, 1976. Cada éxon do gene *Hiomt*, será amplificado por PCR e o produto desta reação será submetido ao DHPLC para busca de possíveis polimorfismos e/ou mutações neste gene. Apoio Metodológico: INCOR (DHPLC).

O éxon 2 do gene *Hiomt* foi amplificado em todos os indivíduos do estudo e submetido ao DHPLC. Foi encontrada uma alteração em um dos pacientes com SFAS, e todos os outros indivíduos obtiveram o mesmo padrão de curva desenhado pelo DHPLC.

Conclusões:

A alteração encontrada em um dos pacientes com SFAS no éxon 2 do gene *Hiomt* pode de alguma maneira exercer influência na patogênese desta Síndrome, porém ainda serão necessárias outras análises para que possamos saber o local exato e qual a alteração encontrada.

10.020

ANÁLISE COMPARATIVA DE PARÂMETROS RÍTMICOS DA TEMPERATURA CORPORAL EM SERES HUMANOS MEDIDA COM A UTILIZAÇÃO DE TERMISTOR COM MEMÓRIA E TERMÔMETRO DIGITAL. Arêas, R.; Duarte, L.^{***}; Menna-Barreto, L. Fisiologia e Biofísica ICB I-USP

Objetivo:

Comparar os parâmetros rítmicos de temperatura corporal humana medida simultaneamente com termômetro digital e termistor com memória (Thermochron iButtons®).

Métodos e Resultados:

Treze sujeitos (quatro homens e nove mulheres) mediram com termômetros as temperaturas oral e axilar a cada uma hora durante dois dias, e, a cada três horas durante três dias, totalizando cinco dias consecutivos de coleta. Concomitantemente, utilizaram termístores no tórax e no punho. Os termístores utilizados neste trabalho são capazes de armazenar os dados coletados em uma memória (até 2048 dados), e, através de uma interface conectada ao computador, os intervalos de coleta são pré-programados e os dados descarregados posteriormente. Os padrões rítmicos das temperaturas periféricas aferidas pelos dois instrumentos de medida e calculados pelo método COSINOR foram semelhantes aos encontrados na literatura. As acrofases médias foram: 16:45h±2:21h da temperatura axilar, 5:41h±5:21h da temperatura torácica e 3:45h±2:00h da temperatura do punho. Nos quatro voluntários que apresentaram ritmicidade circadiana da temperatura oral foram observadas diferenças de fase entre as acrofases dos ritmos de temperatura oral (17:47h ± 1:04h) e periférica do punho, coincidindo com a idéia de oposição de fase desses ritmos encontrada na literatura.

Conclusões:

A coleta de dados de temperatura em seres humanos normalmente realizada com o termômetro digital é limitada a um número reduzido de dados por dia e depende da disciplina do voluntário. Os aparelhos de telemetria além de alto custo, não permitem o monitoramento de dois indivíduos muito próximos e a transmissão dos dados está sujeita a diversos tipos de interferências. Os resultados encontrados nesse trabalho sugerem que, a utilização do termistor com memória é uma metodologia alternativa confiável para estudos da ritmicidade da temperatura corporal periférica em humanos, especialmente recomendado para estudos de séries temporais extensas.