

- Endocrinologia

29.001

REDUÇÃO DA NINHADA POTENCIALIZA A OBESIDADE DE CAMUNDONGOS OBTIDA PELO TRATAMENTO NEONATAL COM MSG. Lacerda, R. N.; Biologia Celular e Genética UEM

**Objetivo:**

A obesidade hipotalâmica em roedores pode ter várias origens. O tratamento neonatal com L-glutamato monossódico (MSG) envolve e lesa o núcleo arqueado (ARC) e a redução no tamanho da ninhada provoca alteração no núcleo ventromedial (VMH). O objetivo do nosso trabalho foi estudar o desenvolvimento da obesidade produzida pelo MSG em ninhadas reduzidas de camundongos.

**Métodos e Resultados:**

Animais machos receberam injeções intradérmicas de MSG nos 5 primeiros dias de vida (4mg/g/dia). Controles receberam salina. Os filhotes foram selecionados para formar ninhadas com 6 animais e com 3 animais. Depois do desmame, os camundongos foram divididos pelo tamanho da ninhada: C 6, MSG 6, C 3 e MSG 3. O peso corporal e ingestão alimentar foram registrados semanalmente até os 90 dias. Em cada grupo experimental, os animais foram pesados para cálculo do índice de Lee (IL) e em seguida sacrificados. As glândulas adrenais foram retiradas para dosagem do conteúdo total de catecolaminas (CA) pelo método do trihidroxihindol. A redução no tamanho da ninhada provocou aumento na ingestão alimentar apenas nos animais controle de 21.3%. O tratamento com MSG provocou uma redução de 32.2% nos MSG 3 e 17.1% nos MSG 6 ( $p < 0.05$ ). A alteração da ninhada provocou um aumento no IL de 3% nos animais controle e de 4.2% nos MSG ( $p < 0.05$ ). O tratamento com MSG levou a um aumento no IL nos MSG 6 e MSG 3 de 15.1% e 16.4%, respectivamente. Os animais CON 3 apresentaram um aumento de 33.9% em relação aos CON 6 na gordura perigonadal. Os animais MSG 3 apresentaram 13% mais gordura que os MSG 6 ( $p < 0.05$ ). O tratamento com MSG provocou um aumento de 60.6% nos MSG 6 e 72.4% nos MSG 3, em relação aos controles ( $p < 0.05$ ). A alteração da ninhada provocou redução no conteúdo de catecolaminas apenas nos animais controle de 28,4% ( $p < 0.05$ ). O tratamento com MSG provocou uma redução de 62.2% nos MSG 6 e 55.8% nos MSG 3 em relação aos controle ( $p < 0.05$ ).

**Conclusões:**

A obesidade promovida pelo tratamento com MSG foi potencializada com a redução no tamanho da ninhada, muito embora o aumento de peso não pode ser devido a uma maior ingestão alimentar, sendo uma das possíveis causas a redução dos estoques de catecolaminas.

29.002

ANÁLISES MORFOLOGICA E MORFOMETRICA DE MANDIBULAS, DE MACHOS E FEMEAS, NA AUSÊNCIA DE ESTERÓIDES SEXUAIS, EM LONGO PRAZO. Armada, L. \*\*; Nogueira, CRR \*; Neves, UL \*; Souza, PS \*; Detogne, JP \*; Armada-Dias, L.; Moreira, R. M.; Nascimento-Saba, C. C. A.; Ciências Fisiológicas UERJ

**Objetivo:**

Na população idosa, a osteoporose senil, acomete homens e mulheres e é decorrente do processo natural de envelhecimento. Para a mulher, além da idade, a menopausa é outro fator de perda óssea, desencadeada pela perda da ação protetora do estrogênio. Já os homens, são poucos os que desenvolvem hipogonadismo associado à osteoporose. O objetivo deste estudo foi verificar se os efeitos da ausência de esteróides sexuais, provocados pela castração, diferem entre machos e fêmeas, em longo prazo.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados ratos adultos, Wistar, três meses de idade. Parte dos animais foi submetida à castração, enquanto o grupo controle sofreu estresse cirúrgico. Após 90 dias, os ratos foram sacrificados e as mandíbulas excisadas e preparadas para análise por Microscopia de Luz. A pesagem dos animais foi realizada no início e ao final do experimento. A espessura do Ligamento Periodontal foi medida a partir da captura de imagens dos cortes histológicos utilizando-se sistema de vídeo-microscopia e as espessuras determinadas utilizando-se o programa ImageLab. As ratas ovariectomizadas apresentam ganho de peso ( $\Delta=75,2g$ ) em relação aos animais do grupo controle ( $\Delta=45,6g$ ), o mesmo não acontecendo com os machos ( $\Delta C=112,2g$ ,  $\Delta Orq=70,5g$ ). A análise

morfológica mostrou alterações ósseas em animais castrados sugerindo aumento das linhas de reversão, aumento do número de osteoclastos e de áreas de reabsorção, sendo essas mais acentuadas em fêmeas. Embora a visualização do espaço periodontal sugira aumento de sua espessura em animais castrados, a análise morfométrica não apresentou diferenças estatisticamente significativas (♀: C=167,7 ± 16,21, OVX= 220,4 ± 25,98, ♂: C=134,5 ± 10,17, Orq=138,3 ± 19,4).

**Conclusões:**

Mesmo em longo prazo de carência de esteróides sexuais, as alterações ósseas e periodontais são mais acentuadas em fêmeas do que em machos.

29.003

ANDROGEN STATUS WITH IN VIVO LPS TREATMENT AND EXPRESSION OF TLR4/CD14 TRANSCRIPTS IN RAT EPIDIDYMISS. Rodrigues, A.; Honda, L.; Avellar, M. C. W.; Farmacologia Endocrino Exp. UNIFESP

**Objetivo:**

Our laboratory has shown that rat epididymis (caput and cauda region) presents constitutive NF- $\kappa$ B activity, which is differentially altered with 0-24 h of in vivo treatment with *E. coli* lipopolysaccharide (LPS, 1 mg/kg, i.v.). In this work, the impact of this treatment on plasma and tissular levels of testosterone (T) and corticosterone (C) was studied and RT-PCR performed to identify expression of cellular components involved with LPS response in the epididymis.

**Métodos e Resultados:**

Male Wistar rats (90-days-old) were injected with LPS (1mg/kg, i.v.) or saline (control) and sacrificed after 0.5-24h. Hormone plasma and tissular levels were assayed by radioimmunoassay. T plasma levels did not change when LPS-treated rats for 0.5 and 1h were compared to control rats (268 ± 70.4; 195 ± 45.7 and 201.6 ± 24.5 ng/dl, respectively), although 2, 3 and 15 h post-injection induced a significant reduction (83.8 ± 12.9; 122 ± 67.4; 56.4 ± 20.5 ng/dl, respectively), returning to control levels after 24h. Similar plasma levels of C were observed when animal groups were compared (366.2 ± 47.2 ng/dl, control rats). Tissular T concentration was analysed in frozen testis, caput (CP) and cauda (CA) epididymis from LPS-treated rats (0.5, 1, 2 and 3h). In testis, T levels after 0.5h and 1h of LPS treatment were similar to control rats, decreasing after 2-3h post-injection. In CP and CA, a transient increase in tissular T levels was seen with 0.5h LPS, returning to control levels after 1-2h and decreasing after 3h of LPS injection. RT-PCR studies, with total RNA from CP and CA from control and 2 h LPS-treated rats, indicated mRNA expression for TLR4 and CD14 in all tissues analysed.

**Conclusões:**

Changes in plasma and tissular androgen status induced by in vivo LPS may contribute to the consequences of this treatment to epididymis. Further studies will clarify if the presence of TLR4/CD14 mRNAs is related to possible direct effect of LPS in the epididymis.

29.004

IMUNOLocalização DA ANGIOTENSINA II (AII) NO TECIDO ADIPOSEO DE RATOS ACLIMATADOS AO FRIO (5°C) OU TEMPERATURA NEUTRA <sup>1</sup> Ferreira, M. L.; <sup>2</sup> Caliari, M. V.; <sup>3</sup> Coimbra, C. C.; <sup>1</sup> Ciências Fisiológicas UFGO; <sup>2</sup> Patologia Geral ICB-UFMG; <sup>3</sup> Biofísica e Fisiologia UFMG

**Objetivo:**

Estudos recentes têm sugerido que a AII tem um papel importante sobre o metabolismo de lipídios, sendo seus efeitos dependentes das características e da localização do tecido adiposo, além da temperatura na qual o animal está aclimatado. O objetivo deste trabalho foi identificar a presença da AII no tecido adiposo de ratos aclimatados ao frio (5C) ou mantidos na zona de neutralidade térmica (25C).

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados ratos Wistar (200-250g) divididos em dois grupos: *Grupo 25°C*: ratos mantidos em um ambiente à temperatura de 25°C por 7 dias; *Grupo 5°C*: ratos mantidos por 7 dias à temperatura de 5°C. Foram utilizados cortes (4µm) dos tecidos adiposos mesentérico e retroperitoneal para imuno-histoquímica pelo método de avidina-biotina peroxidase. O bloqueio das ligações inespecíficas foi feito com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 3% em metanol e soro normal de cabra, seguido por

incubação overnight a 4°C com anticorpo primário humano para All na diluição de 1:2000. Os cortes foram tratados com o anticorpo secundário biotilado na diluição de 1:200. A revelação foi feita com diaminobenzidina. Para a análise morfométrica digital, foram digitalizadas aleatoriamente 10 imagens (objetiva de 10×) de cada lâmina. Os resultados mostraram que a área total ocupada pela marcação imuno-histoquímica da All foi maior no tecido adiposo retroperitoneal dos animais aclimatados ao frio ( $2.667,23 \pm 885 \mu\text{m}^2$ , grupo 5°C vs  $749,83 \pm 261,29 \mu\text{m}^2$ , grupo 25°C;  $p < 0,05$ ); e no mesentérico dos animais mantidos à temperatura ambiente ( $7951,83 \pm 2131,25 \mu\text{m}^2$ , grupo 25°C vs  $1837,83 \pm 648,96 \mu\text{m}^2$ , grupo 5°C;  $p < 0,01$ ).

#### **Conclusões:**

A diferença na expressão da All nos diversos tipos de tecidos, de acordo com a temperatura na qual o animal está aclimatado demonstra os diferentes mecanismos envolvidos nas atividades lipogênica e lipolítica em animais aclimatados à 25°C ou 5°C.

29.005

NÍVEIS HORMONAIS E RESPOSTA INFLAMATÓRIA EM RATOS ADULTOS EXPOSTOS PRENATALMENTE A UM CORTICOSTERÓIDE <sup>1</sup> Piffer, R. C.; <sup>2</sup> Gerardin, DCC \*\*; <sup>3</sup> Ribeiro, CM \*\*; <sup>1</sup> Garcia, PC \*\*; <sup>3</sup> Rocha, NP; <sup>3</sup> Pereira, OCM; <sup>1</sup> Clínica Médica Endocrinologia FM UNESP Botucatu; <sup>2</sup> Farmacologia ICB I-USP; <sup>3</sup> Farmacologia UNESP Botucatu

#### **Objetivo:**

Frente ao grande uso de corticosteróides em gestantes com ameaça de parto prematuro, objetivaram-se investigar os níveis plasmáticos de corticosterona, glicose e testosterona, bem como a resposta inflamatória de ratos adultos expostos à hidrocortisona no último terço da prenhez.

#### **Métodos e Resultados:**

Ratas prenhes receberam 1,5mg/animal/dia (sc) de acetato de hidrocortisona ou salina do 17º ao 19º dia de prenhez. A exposição à hidrocortisona não alterou o peso corporal dos filhotes ao nascer, porém, reduziu significativamente ( $p < 0,05$  - teste "t" Student) o peso da adrenal ( $1,85 \pm 0,11/1,51 \pm 0,08$ \*mg, n=6) e a corticosterona plasmática ( $52,22 \pm 2,35/43,34 \pm 3,82$ \*ng/ml, n=6). Na vida adulta, o tratamento não alterou a quantidade de leucócitos sanguíneos, bem como a migração de neutrófilos para a cavidade peritoneal. Entretanto, apresentaram-se reduzidos a resposta edematogênica da pata, o edema e a permeabilidade vascular da cavidade peritoneal 4h após a exposição à carragenina, porém com  $p > 0,05$ . O peso da adrenal e a corticosterona plasmática apresentaram-se inalterados. Porém, alterações nos níveis plasmáticos de glicose ( $172,49 \pm 7,67/254,70 \pm 29,61$ \*mg/dl, n=6) e de testosterona ( $4,92 \pm 0,68/2,33 \pm 0,45$ \*mg/ml, n=6) foram encontrados.

#### **Conclusões:**

O tratamento pré-natal com hidrocortisona alterou o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal dos filhotes ao nascer. Os resultados obtidos na vida adulta sugerem uma recuperação deste eixo. O nível normal de corticosterona na vida adulta sugere que a tendência em diminuir a resposta inflamatória provavelmente se deva a um possível comprometimento no eixo hipotálamo-hipófise-gônada, e a hiperglicemia, à exposição à hidrocortisona no período crítico da programação gênica da glicemia. Apoio Financeiro: CAPES e CNPq

29.006

A REPOSIÇÃO HORMONAL NEONATAL PODE REVERTER ALTERAÇÕES CAUSADAS PELO ESTRESSE PRÉ-NATAL? <sup>1</sup> Gerardin, DCC \*\*; <sup>2</sup> Piffer, R. C.; <sup>3</sup> Ribeiro, CM \*\*; <sup>3</sup> Pereira, OCM; <sup>4</sup> Bernardi, M. M.; <sup>1</sup> Farmacologia ICB I USP; <sup>2</sup> Clínica Médica Endocrinologia FM UNESP Botucatu; <sup>3</sup> Farmacologia UNESP Botucatu; <sup>4</sup> Patologia FMVZ-USP

#### **Objetivo:**

A diferenciação sexual hipotalâmica, em ratos, inicia-se por um aumento de testosterona plasmática no feto macho. Vários estudos têm demonstrado que situações estressantes durante o último período de gestação induzem a mudanças tardias no comportamento reprodutivo de machos e no controle neuroendócrino da reprodução. Assim, altos níveis plasmáticos de corticosteróides estão associados à depressão da concentração de andrógenos circulantes. Objetivou-se investigar o efeito da suplementação com testosterona neonatal em ratos

machos expostos ao estresse no final do desenvolvimento embrionário sobre o comportamento sexual e a concentração de testosterona na vida adulta.

**Métodos e Resultados:**

Métodos: ratas Wistar prenhes foram submetidas ao estresse de imobilização, 1h/dia, do 18° ao 22° dias de prenhez (Grupo Estresse), ou foram submetidas ao estresse e seus recém-nascidos machos tratados com propionato de testosterona (E+PT) 10µg/animal a zero do nascimento ou não foram manipulados (Grupo Controle). Aos 75 dias de idade, foi avaliado o comportamento sexual e determinada a concentração de testosterona plasmática. Resultados: ratos adultos estressados prenatalmente apresentaram redução na concentração de testosterona plasmática comparado ao controle e quando da suplementação neonatal com testosterona apresentaram recuperação na concentração de testosterona na vida adulta ( $4,92 \pm 0,68^A / 2,51 \pm 0,35^B / 4,38 \pm 0,72^{A,B}$ , teste de Bonferroni,  $p < 0,05$ ,  $n=6$ /grupo). No comportamento sexual, os ratos machos estressados apresentaram aumento na latência para 1ª intromissão, porém a suplementação neonatal com testosterona recuperou a latência para 1ª intromissão ( $71,87 \pm 21,03^A / 209,38 \pm 44,03^B / 97,33 \pm 31,27^{A,B}$ , teste de Bonferroni,  $p < 0,05$ ,  $n=10$ /grupo).

**Conclusões:**

O comprometimento na concentração de testosterona plasmática e no comportamento sexual induzidas pelo estresse pré-natal provavelmente tenham decorrido da inibição do pico de testosterona durante o período de diferenciação sexual, uma vez que a suplementação de testosterona ao nascer preveniu tais alterações evidenciadas na vida adulta.

29.007

BETAGLYCAN DISTRIBUTION IN THE TESTES OF FERTILE AND INFERTILE MEN <sup>1</sup> Araújo, F. C.; <sup>2</sup> Reis, A.B. \*\*; <sup>3</sup> Camargos, A.F.; <sup>4</sup> Petraglia, F.; <sup>3</sup> Reis, F. M.; <sup>1</sup> Ciências Biológicas UFMG; <sup>2</sup> Fisiologia e Biofísica UFMG; <sup>3</sup> Ginecologia e Obstetrícia UFMG; <sup>4</sup> Ginecologia e Obstetrícia University of Siena

**Objetivo:**

Betaglycan, also known as transforming growth factor type III receptor, has recently been characterized as a co-receptor for inhibin. In the rat testis, betaglycan has been found to be expressed by Leydig cells, which are potential targets for paracrine and autocrine effects of inhibin. In this study we evaluated the tissue localization of betaglycan in the human testis and investigated whether this inhibin co-receptor is expressed diversely in fertile and infertile men.

**Métodos e Resultados:**

We studied 15 paraffin-embedded sections of human testicular tissue previously classified by clinical and pathological criteria as: 1) fertile (men with proven fertility whose testes had been removed due to prostate cancer); 2) infertile with normal spermatogenesis and obstructive azoospermia; 3) infertile with germ cell aplasia and non-obstructive azoospermia. Betaglycan was localized by immunohistochemistry using a specific antiserum and the avidin-biotin-peroxidase technique.

Betaglycan was localized mostly in the interstitial compartment (Leydig cells) of all samples analyzed. The distribution and intensity of immunostaining for betaglycan did not differ between testicular samples from fertile and infertile men, nor between those with obstructive and non-obstructive azoospermia.

**Conclusões:**

Betaglycan is expressed in the human testis independently from the presence of germ cells and spermatogenesis.

29.008

EXPRESSION OF ACTIVIN AND INHIBIN RELATED PROTEINS IN BREAST CANCER <sup>1</sup> Bloise, E. \*; <sup>2</sup> Araújo, F. C.; <sup>3</sup> Cassali, G.D.; <sup>4</sup> Petraglia, F.; <sup>1</sup> Reis, F. M.; <sup>1</sup> Ginecologia e Obstetrícia UFMG; <sup>2</sup> Ciências Biológicas UFMG; <sup>3</sup> Patologia Geral ICB-UFMG; <sup>4</sup> Ginecologia e Obstetrícia University of Siena

**Objetivo:**

Activins and inhibins are glycoproteins belonging to the transforming growth factor beta superfamily. Their expression has been demonstrated in various tumors, where they can modulate cell

proliferation and immune response. Here we evaluated the breast cancer tissue expression of activin/inhibin beta-A subunit mRNA and protein.

**Métodos e Resultados:**

Paraffin embedded and liquid nitrogen frozen breast tissue specimens (including normal tissue, fibroadenoma and carcinoma) were retrieved from laboratory files and processed for activin/inhibin beta-A immunolocalization, mRNA expression and dimeric activin A content by using immunohistochemistry, semi-quantitative RT-PCR and ELISA, respectively.

Activin/inhibin beta-A subunit was localized in ductal and lobular epithelial cells but not in myoepithelial or endothelial cells. RT-PCR showed that beta-A subunit mRNA was expressed in breast carcinoma, fibroadenoma, and normal mammary tissue, and the level of expression was higher in carcinoma than in normal tissue ( $p < 0.05$ ). Dimeric activin A was detectable in homogenates of breast cancer tissue at concentrations twice as high as in non-neoplastic tissue ( $p < 0.01$ ).

**Conclusões:**

Breast cancer expresses activin/inhibin subunit, suggesting that this family of growth factors may be involved in the local response to the tumor.

29.009

EZETIMIBE PLUS SIMVASTATIN TREATMENT REDUCES CHYLOMICRON-CHOLESTEROL BUT NOT PLASMA RETINYL ESTERS IN PRIMARY HYPERCHOLESTEROLEMICS. Nunes , V. S.; Neves, M. Q. T. S.; Katona, K.N. ; Quintao , E. C. R.; Nakandakare, E. R.; Lípides FMUSP

**Objetivo:**

Since Ezetimibe is known to impair the intestinal cholesterol absorption we investigated the composition of chylomicrons (CHY) along the postprandial period on Simvastatin (S) as compared to Simvastatin plus Ezetimibe (S+E) treatment of primary hypercholesterolemics (HC).

**Métodos e Resultados:**

HC treatment (n=30) with S (40 mg/d, 4 weeks), followed by S+E (10 mg/d, 8 weeks). At the end of each period, plasma lipids were analyzed in the fasting (F) and postprandial (PP) periods along 10h after a fat meal (40g/m<sup>2</sup> of body surface) containing a standardized amount of retinyl ester (RE). Measurements of plasma RE by HPLC, and analyses of the composition of CHY obtained by ultracentrifugation throughout PP phase were expressed as area under the curve (AUC), or as incremental area (IA = variation in relation to the fasting period value). Measurements of the composition of plasma lipoprotein (LP) obtained by ultracentrifugation was done in F phase.

In the F period, as compared to S alone, S+E further lowered plasma total cholesterol (TC) 17%, VLDL-apoB 47%, IDL-C 44%, LDL-C 15%, LDL-apoB 36%, and LDL-phospholipids 25%. In the PP phase, S+E treatment: lowered the plasma AUC-TC without changing the AUC-triglycerides, and CHY-cholesterol IA was reduced 38%, but CHY-triglycerides, -apoB and -RE IA did not change.

**Conclusões:**

After the test meal, as compared to S, treatment with S+E lowered CHY cholesterol without modifying CHY triglycerides and plasma RE.

29.010

ALTERAÇÕES NA MATRIZ EXTRACELULAR DE GLÂNDULAS SALIVARES DE RATOS DIABÉTICOS DO TIPO I. <sup>1</sup> Lamers, M. L.; <sup>2</sup> Gimenes, F.A. \*; <sup>2</sup> Nogueira, F.; <sup>2</sup> Nicolau, J.; <sup>1</sup> Santos, M. F.; <sup>1</sup> Biologia Celular e do Desenvolvimento USP; <sup>2</sup> Odontologia USP

**Objetivo:**

Analisar a expressão de proteínas da matriz extracelular (MEC) - laminina, fibronectina, colágeno I, III, IV e V - em glândula parótida (P) e submandibular (SM) de ratos normais e diabéticos.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar adultos machos foram injetados com estreptozotocina (60mg/kg peso) ou apenas com veículo (controle). Após 30 dias os animais foram sacrificados, as glândulas foram removidas e fixadas em formaldeído 4% por 6h a 4°C. Após crioproteção em sacarose, as glândulas foram congeladas e cortadas em criostato (5µ m). O material foi submetido à reação de imunofluorescência para as proteínas da MEC e analisado em microscópio confocal. A distribuição de laminina, colágenos IV e V no grupo controle concentrou-se ao redor das unidades secretoras e dos ductos, na membrana basal. Nos diabéticos, o padrão de distribuição manteve-se, mas

ocorreu um significativo aumento na expressão dessas proteínas, especialmente na parótida. Colágeno I, III e fibronectina foram encontrados no estroma da glândula, mais concentrados nos septos. Aparentemente, não houve alteração do padrão de distribuição e na quantidade dessas proteínas entre os grupos estudados, tanto em P quanto em SM.

**Conclusões:**

O aumento da expressão de proteínas da MEC, especialmente as da membrana basal, poderia estar relacionado com a diminuição na secreção de saliva observada em diabéticos.

29.011

EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DO GUARANÁ E DO CHÁ VERDE SOBRE A PRODUÇÃO DE TESTOSTERONA PELAS CÉLULAS INTERSTICIAIS DE TESTÍCULO DE RATO. Leite da Silva \*\*; Andrade Filho R.C.O. \*; Cesar Viera J.S.B. \*\*; Souza Gouveia P. \*; Ferreira, F.; UdrisarP; Wanderley, M. I.; Fisiologia e Farmacologia UFPE

**Objetivo:**

Estudos anteriores deste laboratório mostraram que a injeção do extrato aquoso de guaraná (*Paullinia cupana*, *Sapindaceae*) intensifica a redução do peso da próstata induzida pela castração e reduz o efeito estimulatório da testosterona sobre essa glândula em ratos castrados. A semente de guaraná contém 2,5-6,0 % de cafeína e < 0,2 % das metilxantinas relacionadas (teobromina e teofilina), conhecidos inibidores da fosfodiesterase; outros componentes incluem os polifenóis (catequinas) (4-6 %). O chá verde (*Camellia sinensis*) contém alto nível de polifenóis (30-45 %), principalmente a epigallocatequina-3-galato (EGCG), que está ausente no guaraná, 3-4 % de cafeína e < 0,2 % das outras metilxantinas. Foi referido que a administração sistêmica de EGCG reduz os níveis plasmáticos de testosterona e LH e também o crescimento da próstata em ratos. Nossos objetivos foram: 1) diferenciar entre efeito direto e indireto dos extratos do guaraná e do chá verde sobre a produção de testosterona, utilizando o modelo *in vitro* de células intersticiais testiculares incubadas com os extratos; 2) relacionar a produção de testosterona com extratos que contêm diferentes proporções de catequinas e proporções similares de metilxantinas.

**Métodos e Resultados:**

O guaraná em pó (fornecido por Duarte Fonseca & Cia. Ltda., de Belém-Pará) e o chá verde (5,0 g) foram dissolvidos em 100 ml de água destilada a uma temperatura de 90 °C. A suspensão foi misturada durante 30 min por agitação magnética e centrifugada a 1100 g x 15 min (guaraná) ou filtrada (chá verde); os sobrenadantes foram considerados extrato aquoso de guaraná e de chá verde. Uma preparação de  $1 \times 10^6$  células/0,5 ml foi pré-incubada durante 30 min. com o extrato de guaraná ou de chá verde diluído 10 vezes com meio de cultura M199 (concentração final). Após lavagem (para eliminação dos extratos) as células foram reincubadas durante 3 hs com hCG (5 mUI/ml) (produção estimulada de testosterona) ou M199 (produção basal de testosterona). A testosterona foi determinada por RIE. O pré-tratamento com guaraná aumentou a produção basal e a estimulada com testosterona em 42,6 e 77,8 %, respectivamente, enquanto que o pré-tratamento com chá verde inibiu ambas produções em 21,3 % e 63,8 %, respectivamente. Em estudo adicional, células não pré-tratadas foram incubadas durante 3 hs com a mesma diluição (1/10, concentração final) do extrato de guaraná ou de chá verde em ausência ou presença de hCG (5 mUI/ml). O extrato de guaraná reduziu em 45,3 % e 66,4 % a produção basal e estimulada de testosterona, enquanto o extrato de chá verde reduziu esses parâmetros em 80,4 e 95 %, respectivamente. A viabilidade celular foi avaliada pela exclusão do azul Trypan e resultou em 90-95 % para o controle e 80 % para qualquer dos dois extratos.

**Conclusões:**

A inibição causada pelo chá verde pode ser devida principalmente à presença da catequina EGCG. Esse dado estaria em concordância com a redução do peso da próstata referido na literatura. O guaraná, apesar de não possuir a mesma catequina EGCG que o chá verde, em tempo mais prolongado de incubação mimetizou o efeito do chá verde, concordando com estudos prévios do guaraná na redução da próstata após tratamento crônico na água de beber; em curto período de incubação (pré-tratamento) com o guaraná predominou o efeito estimulatório da cafeína. A proporção cafeína/catequina(s), doses, e duração do tratamento estão sendo estudados em nosso lab. com componentes puros para esclarecer o mecanismo de ação dos componentes do guaraná e do chá verde.

29.012

EFEITO DO TRATAMENTO COM GLUTAMATO MONOSSÓDICO SOBRE O NÚMERO DE FILHOTES DE RATAS Menezes, E. F. <sup>\*</sup>; Silva M. P. <sup>\*</sup>; Silva, A. C. M.; Bonfleur, M. L. <sup>\*\*</sup>; Balbo, S. L.; Sagae, S. C.; CCBS UNIOESTE

**Objetivo:**

A administração de Glutamato Monossódico (MSG) durante o período neonatal em roedores, produzindo lesões permanentes em neurônios do núcleo arqueado e na eminência mediana resultando em obesidade, redução do crescimento corporal e no número de ovócitos liberados pelas fêmeas. A capacidade de reprodução de ratas é dependente da ocorrência normal dos eventos ovulatórios, o qual depende da integridade funcional do eixo hipotálamo-hipófise. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi verificar possíveis alterações no número de filhotes e no peso da gordura intraperitoneal de ratas MSG-tratadas

**Métodos e Resultados:**

Ratas Wistar receberam durante os 5 primeiros dias de vida injeções de 4 mg/Kg de peso corporal de MSG (grupo MSG, n=13), ou salina hiperosmótica (grupo salina, n=21). Fêmeas adultas (250-350g) foram mantidas em contato com machos adultos durante 15 dias, na proporção de 1 macho para cada 2 fêmeas, sendo uma fêmea MSG e uma salina para cada caixa. Após os 15 dias, as fêmeas foram colocadas em caixas individuais e o número de filhotes nascidos de cada fêmea foi determinado. As fêmeas foram mortas por decapitação e a gordura intraperitoneal foi isolada e pesada. O grupo MSG apresentou maior acúmulo de gordura intraperitoneal (4,75±0,74; n=16) quando comparado ao grupo salina (2,00±0,15; n=17) e a média do número de filhotes nascidos das fêmeas MSG (n=13) foi significativamente menor (2,33±0,75) do que a média do número (8,29±0,92) das fêmeas salina (n=14). Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média e para a análise estatística foi utilizado o teste *t* de *Student*, com  $p < 0,05$  adotado como critério de significância.

**Conclusões:**

O tratamento com MSG promoveu acúmulo de gordura intraperitoneal e demonstrou ser efetivo em reduzir o número de filhotes de fêmeas MSG-tratadas.

29.013

STATUS FUNCIONAL TIREOIDEANO NA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA INDUZIDA PELO INFARTO DO MIOCÁRDIO EM RATOS Olivares, E. L.; Marassi M P <sup>\*\*</sup>; Fortunato, R. S. <sup>\*\*</sup>; Costa-e-Sousa, R. H. <sup>\*\*</sup>; Mattos, E.; Masuda, M. O.; Carvalho, P.; IBCCF UFRJ

**Objetivo:**

Vários modelos de hipotireoidismo e de insuficiência cardíaca (IC) induzem a alterações similares na função e na expressão de determinados genes cardíacos. Além disso, alguns trabalhos sugerem queda de  $T_3$  e/ou aumento de  $T_3$  reverso plasmáticos, a despeito do TSH e  $T_4$  normais (síndrome do  $T_3$  baixo), prognóstico ruim na IC em pacientes. Porém, é pífio na literatura estudos experimentais seriados que demonstrem o verdadeiro *status* tireoideano bem como o metabolismo das iodotironinas na IC. Assim, utilizando o modelo de infarto do miocárdio (IAM) em ratos, nossos objetivos foram: investigar a função da tireóide, a atividade da desidase tipo I (DI) e buscar correlações entre possíveis alterações nestes parâmetros e a função cardíaca pós-IAM.

**Métodos e Resultados:**

O IAM foi produzido em ratos Wistar machos (INF, n=6) pesando 200-300g através da oclusão permanente da artéria coronária esquerda. Um grupo de ratos falso-operados (SHAM, n=5) serviu de controle. Para o estudo endócrino, foram realizadas coletas de sangue seriadas imediatamente antes (S0), uma (S1), quatro (S4), oito (S8) e doze (S12) semanas após a cirurgia. As concentrações plasmáticas de TSH e  $T_4$  foram obtidas por radioimunoensaio nestes períodos enquanto a avaliação da atividade da DI no fígado, rim e tireóide foi realizada na S12. A função cardíaca foi avaliada através de eletro e ecocardiografia na S1, S4, S8 e S12, e cateterismo ventricular esquerdo na S12. Os níveis séricos hormonais foram similares em ambos os grupos na S0. Porém, os de TSH aumentaram (3.99±0.48 vs 0.76±0.02 ng/ml,  $P < 0.01$ ) enquanto os de  $T_4$  diminuíram (1.94±0.21 vs 3.07±0.38 µg/dl,  $P < 0.05$ ) no INF vs SHAM na S1 respectivamente. Curioso, foi a retomada dos níveis de  $T_4$  para valores basais (3.29±0.49 vs 3.11±0.32 ng/ml), a despeito do persistente aumento do TSH (2.87±0.60 vs 1.61±0.18 µg/dl,  $P < 0.05$ ) no INF vs SHAM na S4. Tanto o TSH como o  $T_4$  exibiram valores basais em ambos os grupos na S8 e S12. A

atividade da DI (em pmoles rT3/min.mg ptn) mostrou-se baixa no grupo INF vs SHAM tanto no fígado ( $51.75 \pm 8.19$  vs  $92.46 \pm 5.12$ ,  $P < 0.01$ ) como na tireóide ( $43.84 \pm 0.05$  vs  $151.6 \pm 18.54$ ,  $P < 0.01$ ) respectivamente. Nenhuma diferença foi observada entre os grupos no rim.

**Conclusões:**

O IAM induz não só a alterações na conversão periférica de  $T_4$  em  $T_3$ , mas também, interfere com a função tireoideana, principalmente na fase aguda da doença cardíaca.

29.014

EFEITO DO TRATAMENTO CRÔNICO COM FLUORETO NA SENSIBILIDADE À INSULINA E DENSIDADE ÓSSEA <sup>1</sup> Buranello, K.A. \*; <sup>1</sup> Takamiya, A.S. \*; <sup>1</sup> Couto, S.C.S. \*; <sup>2</sup> Moraes, K.A.C. \*\*; <sup>2</sup> Garbin, C.A.S.; <sup>1</sup> Sumida, H.; <sup>1</sup> Ciências Básicas UNESP Araçatuba; <sup>2</sup> Odontologia Social e Clínica Infantil UNESP Araçatuba

**Objetivo:**

Está bem estabelecido que a resistência à insulina pode ocorrer com o envelhecimento. Um dos maiores problemas da saúde pública é a osteoporose, enfermidade mais comum com a instalação da menopausa. O fluoreto de sódio (NaF) tem sido utilizado como terapia para a osteoporose, e seus efeitos são mediados pela incorporação dos íons de fluoreto em cristais ósseos para formar fluorapatita e pelo aumento da atividade osteoblástica. Por outro lado, alguns estudos demonstraram que a terapia com o NaF aumenta a taxa do osso mineral, mas não diminui a taxa de fraturas vertebrais. E além do mais, o NaF ocasiona inibição da glicólise, diminuição da secreção de insulina e hiperglicemia. Muitas destas respostas sugerem que o NaF pode ocasionar resistência à insulina. Sabendo-se que o NaF pode alterar o metabolismo de carboidratos, tornou-se fundamental caracterizar o efeito do NaF sobre a sensibilidade à insulina e densidade óssea.

**Métodos e Resultados:**

Utilizou-se ratas Wistar (2 meses - 200g) ovariectomizadas que foram divididas aleatoriamente em dois grupos: 1) OVX-C, grupo controle; 2) OVX-F, grupo submetido ao tratamento com NaF (50 mg/L de flúor na forma de NaF) na água de beber. Após 6 semanas realizou-se teste de tolerância à insulina (na dose de 0,75U/kg p.c.) e removeu-se o fêmur para avaliação da densidade óssea utilizando-se o sistema digital DIGORA (Soredex, Orion Corporation, Helsinki, Finland). Os resultados demonstraram que: **1)** o grupo OVX-F apresentou uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) na sensibilidade à insulina em relação ao grupo OVX-C [Kitt (velocidade de desaparecimento de glicose) de OVX-C =  $3,62 \pm 0,69$  vs OVX-F =  $1,58 \pm 0,21$ ]; **2)** não houve alteração significativa na densidade óssea entre os dois grupos estudados.

**Conclusões:**

O tratamento crônico com NaF (50 mg/L) altera a sensibilidade à insulina em ratas ovariectomizadas sem interferir na densidade óssea.

29.015

PINEALECTOMIA NO DESMAME ALTERA O DESENVOLVIMENTO DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO NO PERÍODO PERIPUBERAL SEM COMPROMETER A PRODUÇÃO DE LEPTINA. Brito, L. C. \*\*; Peres, S. B. \*\*; Fonseca-Alaniz, M. H.; Takada, J. \*\*; Costa, C. E. M. \*\*; Cipolla Neto, J.; Lima, F. B.; Fisiologia e Biofísica USP

**Objetivo:**

Para o desencadeamento da puberdade é necessário uma quantidade crítica e distribuição peculiar de tecido adiposo branco (TAB). Como a melatonina, produzida pela glândula pineal, exerce importantes ações sobre o TAB e a reprodução, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito da ablação da glândula pineal sobre o desenvolvimento deste tecido no período peripuberal.

**Métodos e Resultados:**

Ratas Wistar foram pinealectomizadas no desmame (3 semanas de vida) e a puberdade delimitada pelo marco da abertura vagina (AV). As ratas foram sacrificadas 1 dia antes, 1, 4 e 15 dias após AV e adipócitos viscerais (VS) e subcutâneos (SC) foram isolados e submetidos à análise morfométrica. Foi acompanhado o peso corporal destes animais ao longo deste período. O sangue foi coletado e o plasma separado para dosagem de leptina. Nestes tecidos, foi avaliada a expressão gênica da leptina pelo método semiquantitativo de RT-PCR. A pinealectomia aboliu um possível padrão rítmico de ganho de peso corporal visto nos animais controle, acarretou um aumento de 46% no peso do coxim e de 58% no volume dos adipócitos perigonadais no 15º pós



AV e, no tecido SC, provocou aumentos de 35%, 55% e 38%, respectivamente, no peso dos coxins nos dias pré AV, 4º e 15º dias pós AV sem alterar o volume celular. Não houve diferença na celularidade tecidual entre os grupos. Também não encontramos diferença na leptinemia e na sua expressão gênica pelos tecidos adiposos VS e SC.

**Conclusões:**

A ablação da glândula pineal no período de desmame acarretou alteração no desenvolvimento do TAB durante o período peripuberal, alterou o ritmo de ganho de peso sem alterar a leptinemia e a expressão gênica deste hormônio pelo tecido adiposo perigonadal e subcutâneo da região inguinal.

29.016

EFEITO DO JEJUM NO DESENCADEAMENTO DE APOPTOSE EM LINFÓCITOS DE RATOS <sup>1</sup> Pires J \*; <sup>1</sup> Curi R; <sup>2</sup> Levada , A. C.; <sup>3</sup> Otton R; <sup>1</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1-USP; <sup>2</sup> ICB-USP; <sup>3</sup> CCBS UNICSUL

**Objetivo:**

Este trabalho tem por objetivo avaliar se ratos submetidos ao jejum de 48 horas apresentam maior número de linfócitos em apoptose. Isto se justifica devido ao fato de que no jejum há um aumento de ácidos graxos livres no plasma e estes são potentes indutores de apoptose.

**Métodos e Resultados:**

Ratos machos adultos (200-240 g) foram submetidos a um período de 48 horas de jejum. Os linfócitos foram obtidos a partir dos linfonodos mesentéricos e avaliados imediatamente após a obtenção ou após cultura de 48h em meio RPMI 1640. Após este período os seguintes parâmetros foram analisados: dosagens plasmáticas de glicose,  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ -HBA) e acetoacetato; viabilidade celular; análise de fragmentação de DNA; análise de despolarização mitocondrial; externalização de fosfatidilserina; coloração pela marcação de lipídio neutro " Nile- red" e ativação de caspase-3.

**Resultados:** Houve aumento significativo na concentração de  $\beta$ -HBA no plasma de ratos em jejum (4,28 mmol/L) em relação ao grupo controle (0,21 mmol/L). O acetoacetato, não foi diferente entre os grupos. A concentração plasmática de glicose foi menor no grupo em jejum (79 mg/dL) quando comparado ao grupo controle (190 mg/dl). A viabilidade dos linfócitos não foi diferente entre os grupos após 48h de cultura. A fragmentação do DNA aumentou nos linfócitos do grupo jejuado em 34% em relação ao controle após 48 horas de cultura. Na coloração com "nile red" não houve diferença significativa entre os linfócitos do grupo controle e o grupo jejum. Os linfócitos de ratos submetidos ao jejum apresentaram um aumento em relação ao grupo controle de 41 e 125 % na externalização de fosfatidilserina nos tempo 0h e 48 hs, respectivamente. O efluxo de rodamina 123 como índice de despolarização mitocondrial, apresentou aumento de 125 % nos linfócitos dos ratos submetidos ao jejum em relação aos linfócitos controle. A ativação de caspase-3 mostrou aumento significativo nos linfócitos de ratos submetidos ao jejum (90%) em relação ao grupo controle.

**Conclusões:**

Podemos concluir que o estado de jejum aumenta a proporção de linfócitos em apoptose conforme indicado pelos parâmetros analisados. Este fato provavelmente relaciona-se com o aumento de ácidos graxos livres no plasma que atuam como disparadores de processo apoptótico.

29.017

DETERMINATION OF CORTICOSTERONE LEVELS IN SERUM OF MICE INFECTED WITH *STRONGYLOIDES VENEZUELENSIS*. <sup>1</sup> Souza, I.; <sup>1</sup> Machado , E. R. \*\*; <sup>1</sup> Turato , W. M. \*\*; <sup>2</sup> Castro, M.; <sup>1</sup> Faccioli , L. H.; <sup>1</sup> Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas RP-USP; <sup>2</sup> Clínica Médica FMRP-USP

**Objetivo:**

Corticosterone is the main glucocorticoid produced by rodents. Glucocorticoids are adrenal steroid hormones which are synthesized in the adrenal cortex. Stress increases the release of corticotropin-releasing factor (CRF), thus raising glucocorticoid levels. Infection-induced stress activates the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and results in elevated serum corticosterone (CORT) levels. *Strongyloides venezuelensis* is a parasite that infect most rodent species. The purpose of this study was to determine corticosterone levels in serum of mice infected

with the parasite *S. venezuelensis*. In addition we recovered eggs and females and correlate it with hormone levels.

**Métodos e Resultados:**

Male Balb/c mice weighing 16-20g, were divided in two groups: Non Infected Control Animal (NIA) and Infected Animals (IA) (1500L<sub>3</sub> s.c.). On the 7<sup>th</sup>, 14<sup>th</sup> and 21<sup>th</sup> days after infection, animals were killed by decapitation between 8:30 and 10:30 (a.m.). Trunk blood was collected into plastic tubes and centrifuged at 4°C and serum samples were frozen at -20°C until corticosterone levels determination. The corticosterone levels were measured by radioimmunosassay method. The eggs were recovered from feaces and the number was determined by Cornell-McMaster method. The females were recovered from bowel and the number determined by Sato method. Corticosterone levels increased on the 7<sup>th</sup> day in IA (10,6 ± 1,3) when compared with NIA (4,9 ± 0,6). Nevertheless, in IA on the 14<sup>th</sup> (5,3 ± 0,7) and 21<sup>th</sup> (6,7 ± 1,3) days after infection, the level of corticosterone returned again to the same levels of NIA (6,3 ± 1,3 and 6,2 ± 1,5). The number of eggs and females on infected animals were higher on the 7<sup>th</sup> day after infection and on the 14<sup>th</sup> and 21<sup>th</sup> days the females were completely expelled.

**Conclusões:**

Our data suggest that the increase corticosterone levels on the 7<sup>th</sup> day after infection (IA) correlated with the increase in the number of eggs and female in the mice.

29.018

CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE ESTRADIOL E PROGESTERONA NA TARDE DO PROESTRO DE RATAS TRATADAS COM GLUTAMATO MONOSSÓDICO (MSG) <sup>1</sup> Menezes, E. F. <sup>1</sup>; <sup>1</sup> Silva, M. P. <sup>1</sup>; <sup>1</sup> Silva, A. C. M.; <sup>2</sup> Bonfleur, M. L. <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup> Balbo, S. L.; <sup>1</sup> Sagae, S. C.; <sup>1</sup> CCBS UNIOESTE; <sup>2</sup> Fisiologia UNICAMP

**Objetivo:**

A administração de (MSG) durante o período neonatal resulta em disfunções neuroendócrinas nos animais adultos. Para a ocorrência dos eventos ovulatórios é necessário um pico na liberação de estradiol e progesterona, o qual depende da integridade funcional do eixo hipotálamo-hipófise-ovários. O objetivo deste trabalho foi verificar possíveis alterações nas concentrações plasmáticas de estradiol e progesterona na tarde do proestro e no peso da gordura intraperitoneal em ratas tratadas com MSG.

**Métodos e Resultados:**

Ratas Wistar receberam durante os 5 primeiros dias de vida injeções de 4 mg/g de peso corporal de MSG (grupo MSG), ou salina hiperosmótica (grupo salina) e um terceiro grupo sem tratamento (grupo controle). O esfregaço vaginal foi analisado ao microscópio óptico diariamente e, aos 90 dias, às 15 horas da tarde as fêmeas que estavam na fase de proestro do ciclo estral foram mortas por decapitação. A gordura intraperitoneal foi isolada e pesada e o sangue foi coletado para análise da concentração plasmática de estradiol, e progesterona por radioimunoensaio. O tratamento com MSG promoveu maior acúmulo de gordura intraperitoneal (gramas) (3,60±0,21; n=21) do que no grupo salina (2,45±0,16; n=19) e que no grupo controle (2,94±0,15; n=4); aumentou as concentrações de estradiol (pg/ml) (17,99±1,14; n=24) em relação às de fêmeas salina (13,98±1,14; n=16) e controle (11,38±0,62; n=5), não alterando as concentrações de progesterona (ng/ml) (6,22±0,73; n=7) em comparação às de fêmeas salina (6,12±0,53; n=5) e controle (5,05±0,44; n=18). Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média e o teste de variância ANOVA foi utilizado para análise estatística (p<0,05).

**Conclusões:**

O tratamento com MSG promoveu aumento da gordura intraperitoneal e nas concentrações plasmáticas de estradiol, não alterando as concentrações de progesterona em ratas na tarde do proestro.

29.019

EFEITO DO USO DO ESTERÓIDE-ANABÓLICO-ANDROGÊNICO DECANOATO DE NANDROLONA E DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A FISIOLOGIA DA FERTILIDADE DE RATAS JOVENS. Sciani, J.M. <sup>1</sup>; Stivaletti, V. L. G.; Douglas, N. <sup>\*\*</sup>; Bachi, A. <sup>\*\*</sup>; Olmedo, P. <sup>\*\*</sup>; Tomé, L. A.; Núcleo de Pesquisas Biológicas UNESP

**Objetivo:**

Avaliar a variação do ciclo estral de ratas jovens com a administração do esteróide anabólico-androgênico Decanoato de Nandrolona e submetidas ao exercício físico anaeróbio.

**Métodos e Resultados:**

Foram usadas ratas da cepa *Sprague-Dawley* com 5 meses de idade, em condições de biotério padrão. As ratas avaliadas (Grupo Deca/Atleta - GDA; n=10) receberam o fármaco (2,5mg/kg massa corporal - mc) 3 vezes por semana alternados com atividade física anaeróbia 3 vezes por semana (natação com 8 séries de 1 minuto cada, com 2 minutos de descanso entre as séries e peso de 5% a mc preso ao dorso) por 8 semanas. Foi feita lavagem vaginal diária para identificação da fase do ciclo estral. Os resultados obtidos foram comparados com os grupos: Controle - GC (n=10), que não receberam o fármaco e nem foram submetidos a exercícios; Atleta - GA, (n=10), fêmeas submetidas ao mesmo modelo experimental de exercícios, sem administração da droga; e Deca/Sedentária - GDS, (n=10), que receberam o fármaco, mas não realizaram exercícios. Através da lavagem vaginal diária antes do experimento, observou-se a ocorrência de ratas com ciclo estral normal, de 4 ou 5 dias de duração, entre todos os grupos de fêmeas. Ratas dos grupos GC e GA mantiveram ciclo constante ao longo das 8 semanas experimentais, atravessando todas as fases do ciclo, incluindo a fase de estro, o que evidencia a ocorrência de ovulação normal nestes animais. Já as ratas dos grupos GDS e GDA apresentaram interrupção abrupta do ciclo estral a partir da 2ª semana de administração do Decanoato de Nandrolona, deixando de exibir quaisquer das fases características do ciclo normal. A avaliação citológica do conteúdo vaginal destas fêmeas, obtido pelas lavagens diárias, demonstrou a presença de muitos leucócitos e muco abundante, semelhante ao aspecto típico de anestro descrito em outros grupos de fêmeas.

**Conclusões:**

Poderia se concluir que o uso do esteróide anabólico-androgênico Decanoato de Nandrolona, na dose de 2,5 mg/kg mc, causa interrupção do ciclo estral das fêmeas, comprometendo, assim, a fertilidade destes animais.

29.020

A REPOSIÇÃO HORMONAL NEM O TRATAMENTO COM FLUORETO ALTERAM O FLUXO E A COMPOSIÇÃO DA SALIVA DE RATAS OVARIECTOMIZADAS <sup>1</sup> Guimarães, L.L. <sup>\*</sup>; <sup>1</sup> Gaetti-Jardim, E.C. <sup>\*</sup>; <sup>1</sup> Takeshita, E. M. <sup>\*</sup>; <sup>2</sup> Leite, C. M.; <sup>1</sup> Dornelles, RCM; <sup>3</sup> Delbem, A. C. B.; <sup>1</sup> Sasaki, K. T.; <sup>1</sup> Ciências Básicas UNESP Araçatuba; <sup>2</sup> Fisiologia FMRP-USP; <sup>3</sup> Odontologia Social e Clínica Infantil UNESP Araçatuba

**Objetivo:**

A reposição de estradiol (E<sub>2</sub>) tem sido utilizada na prevenção da osteoporose em mulheres pós-menopáusicas e o tratamento com fluoreto (F), apesar de polêmico, diminui a incidência de fraturas em vértebras. O F é um ativador da adenilciclase em glândulas salivares. O objetivo do trabalho foi verificar se o E<sub>2</sub> e o F juntos ou separadamente alteram o fluxo e a composição da saliva de ratas ovariectomizadas (OVX).

**Métodos e Resultados:**

Após 2 semanas da castração, ratas Wistar (160-180g) receberam implantes s.c. contendo E<sub>2</sub> ou óleo de milho (O) e água de beber contendo ou não 10 ppm de NaF. Após 3 meses de tratamento e jejum prévio de 12 h, foi coletada saliva estimulada com pilocarpina (1 mg/Kg p.c.) durante 15 min. Foram determinados o fluxo, a concentração de proteína e a atividade de amilase da saliva. Os resultados (média±EPM, n=7-10) obtidos para os grupos O-água, O-F, E-água, E<sub>2</sub>-F foram, respectivamente: fluxo(mL/min/100g p.c.): 0,0086±0,0015; 0,0098±0,0014; 0,0080±0,0017; 0,0073±0,0014; proteína (mg/mL): 11,37±1,78; 14,96±2,40; 13,40±1,44; 12,23±2,20; amilase (U/mL): 1744,5±274,8; 1731,1±135,4; 1279,4±242,8; 1182,0±169,5. As diferenças entre os grupos não foram estatisticamente significantes em nenhum dos parâmetros analisados.

**Conclusões:**

Nem o fluxo nem a composição da saliva estimulada são alterados pela reposição com estradiol e tratamento com fluoreto durante 90 dias sozinhos ou associados, em ratas ovariectomizadas.

29.021

DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA APIRASE EM LINFÓCITOS DE RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS COM ALOXANO Gonçalves, J. F.; Mazzanti, C. M. A. \*\*; Leal, B. R. \*\*; Streher, C. A. \*; Spanevello, R. \*\*; Pereira, L. B. \*\*; Zanin, R. \*\*; Morsch, A. \*\*; Schetinger, M. R. C.; Química UFSM

**Objetivo:**

Determinar a atividade da apirase em linfócitos de ratos diabéticos, visto que a função dos linfócitos pode estar alterada pela variação metabólica que ocorre na diabetes melito tipo 1.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar machos, adultos foram divididos em 2 grupos: I-Controle e II-tratado. O grupo II foi submetido à indução do diabetes tipo 1 pelo aloxano. O nível de glicose sanguínea nos animais do grupo II foi significativamente maior ( $301\text{mg/dL} \pm 8.36$ ,  $n=7$ , SEM;  $p<0.001$ ), comparado com o grupo I ( $65,40\text{mg/dL} \pm 2.19$ ,  $n=8$ , SEM). Após um período de 2 meses, os animais foram anestesiados, o sangue coletado por punção cardíaca, a atividade da apirase foi determinada em linfócitos, isolados por método de Böyum, em meio de reação contendo  $\text{CaCl}_2$  0,5 mM, NaCl 120 mM, KCl 5 mM e glicose 60 mM. A temperatura de incubação utilizada foi  $37^\circ\text{C}$  e o pH no meio de reação foi 8,0. A concentração de proteínas no meio foi de  $2\text{-}4\mu\text{g}$ . A leitura das amostras foi realizada com verde de malaquita e a atividade calculada em nmol Pi/min/mg proteína. Em relação à hidrólise de ATP, o grupo controle apresentou uma atividade média de 45.03 (SEM  $\pm 2.05$ ;  $n=8$ ) enquanto o grupo tratado apresentou a atividade média de 119.4 (SEM  $\pm 3.84$ ;  $n=7$ ). Na hidrólise de ADP, a atividade média do grupo controle foi 39.63 (SEM  $\pm 2.38$ ;  $n=8$ ) e do grupo tratado, 140.02 (SEM  $\pm 5.41$ ,  $n=7$ ). A diferença entre os grupos foi extremamente significativa ( $P<0,0001$ ) tanto na hidrólise de ATP quanto de ADP.

**Conclusões:**

Os animais diabéticos apresentam um aumento significativo na atividade da apirase em linfócitos, comparado com os animais saudáveis, sugerindo que há uma alteração na resposta imune gerada pela diabetes induzida pelo aloxano.

29.022

ATIVIDADE IODOTIRONINA DESIODASE TIPO 1 E EXPRESSÃO DE MAP KINASE P44/P42 EM TUMORES TIREÓIDEOS. <sup>1</sup> Pereira, V. S. \*; <sup>1</sup> Marassi M P \*\*; <sup>1</sup> Pantaleao, T. U. \*; <sup>1</sup> Rosenthal,; <sup>2</sup> Vaisman, M.; <sup>1</sup> Costa, V. M. C.; <sup>1</sup> IBCCF UFRJ; <sup>2</sup> HUCCF UFRJ

**Objetivo:**

Duas isoformas da MAP cinase (ERK 1 e 2) são importantes no controle da proliferação e função celulares por participarem da transdução de sinais dos fatores de crescimento. No tecido tireóideo a conversão enzimática de T4 em sua forma bioativa (T3) é catalisada pela iodotironina desiodase tipo 1 (D1) ativada pelo TSH, principal estímulo proliferativo e funcional da glândula. **Objetivos:** Avaliar a fosforilação da ERK, bem como a atividade da D1, em tireóides de 11 pacientes com diferentes patologias tireóideas: bócio nodular (BN) ou multinodular (BMN), bócio difuso (BD), doença de Basedow Graves (G), adenoma folicular (AF) ou de Hürtle (AH) e tireoidite de Hashimoto (TH).

**Métodos e Resultados: Métodos:**

Alíquotas dos tecidos tireóideos, obtidos por tireoidectomia eletiva, foram homogeneizadas e centrifugadas ( $6000\times g$ ,  $4^\circ\text{C}$ , 6min). Para a realização dos western blot,  $100\mu\text{g}$  do extrato protéico foram submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE), transferidos para membrana de PVDF, hibridizados com anticorpos específicos para ERK e ERK fosforilada (pERK), sendo os immunoblots revelados em ECL (Amersham) e quantificados por densitometria. A atividade D1 foi determinada usando  $^{125}\text{I-rT}_3$  como substrato e quantificando o  $^{125}\text{I}$  liberado. A atividade D1 foi expressa como  $\text{pmol rT}_3 \text{ min}^{-1} \text{ mg ptn}^{-1}$

**Resultados:**

Em 10 dos tecidos estudados, a proteína ERK detectada estava preferencialmente sob forma fosforilada. A única exceção foi o tecido TH, no qual a ERK total era 4,2 x maior que a pERK. Nos tecidos G, a relação pERK/ERK variou de 1,02 a 5,96, enquanto nos tecidos nodulares praticamente toda ERK estava sob forma fosforilada. A atividade D1 variou entre indetectável e  $36,0 \text{ pmoles rT}_3 \text{ min}^{-1} \text{ mg ptn}^{-1}$ , sem aparente relação com pERK ou relação pERK/ERK. Em média, a atividade D1 dos tecidos G e TH foi maior que a das outras patologias ( $26,4$  vs  $13,2$  pmoles  $\text{rT}_3 \text{ min}^{-1} \text{ mg ptn}^{-1}$ )

**Conclusões:**

A proteína ERK está preferencialmente fosforilada em todos os tecidos estudados, com exceção da TH. Não se detectou relação entre conteúdo de pERK e atividade D1.

29.023

EFEITO DE ESTRADIOL NA FOSFORILAÇÃO DA MAPK EM CORAÇÃO E TIREÓIDE DE RATAS: RESULTADOS PRELIMINARES. Pantaleao, T. U. <sup>1</sup>; Marassi MP <sup>2</sup>; <sup>3</sup> Pereira VS <sup>1</sup>; Rosenthal D; Costa, V. M. C.; IBCCF UFRJ

**Objetivo: Objetivos:**

No presente estudo avaliamos o efeito da ovariectomia com ou sem reposição com benzoato de estradiol (E<sub>2</sub>b) sobre o grau de fosforilação de ERK, um indutor proliferativo, em coração e tireóide.

**Métodos e Resultados: Métodos:**

Ratas Wistar adultas foram divididas em: controle (C), ovariectomizada (OVX), OVX com reposição diária de E<sub>2</sub>b, 0,7µg/100g pc (OVX+0,7) e 14µg/100g pc (OVX+14), sc, 21 dias. Após sacrifício, coletaram-se soro, corações e tireóides. 50 mg de cada tecido foram homogeneizadas em 1ml de tampão Tris-HCl 62,5mM, pH 6,8, 10% glicerol, 3% SDS, PMSF 1mM. Após centrifugação (6000xg, 4°C, 6min), foi feito "western-blotting" de 100µg do extrato protéico (eletroforese SDS-PAGE, transferência para membrana PVDF, hibridização com anticorpos específicos para ERK e pERK) Os *immunoblots* foram revelados com ECL (Amersham) e quantificados por densitometria (NIH-Image 1.6; NIH, USA) O TSH sérico foi quantificado por RIE específico.

**Resultados:**

Não houve alteração significativa do TSH sérico nos 3 grupos tratados. Após castração houve aumento de ERK total (5,8x) bem como de sua forma fosforilada (3,5x) no coração. Na tireóide, houve aumento menos expressivo de pERK (2,0x), e a castração não afetou ERK total. A reposição com E<sub>2</sub>b 0,7 µg/100g pc elevou ainda mais o ERK total (7,1x) e o pERK (6,3x) no coração. Na dose mais elevada (E<sub>2</sub>b 14µg/100g pc), ERK aumentou mais (8,7x), mas pERK não acompanhou este aumento (4,6x). No tecido tireóideo, ERK pouco se modificou após OVX, enquanto pERK dobrou. Houve diminuição importante no ERK total (~50%) após o tratamento com E<sub>2</sub>b, em ambas as doses utilizadas, enquanto pERK diminuiu discretamente com 0,7 µg/100g pc e manteve-se no mesmo nível que nos OVX com dose de 14 µg/100g pc.

**Conclusões:**

No tecido tireóideo, há diminuição do conteúdo total de ERK após E<sub>2</sub>b, mas a diminuição de pERK é bem acentuada, sugerindo otimização da via. No tecido cardíaco, o tratamento gerou aumento tanto no conteúdo total de ERK, quanto na sua fosforilação. Nossos dados preliminares, sugerem que haja padrão de regulação pelos estrógenos diferente nos dois tecidos estudados.

29.024

HDL COMPOSITION IS ALTERED IN NAGASE ANALBUMINEMIC RATS (NAR) <sup>1</sup> Catanozi S; <sup>1</sup> Rocha JC; <sup>1</sup> Passarelli; <sup>2</sup> Mesquita CR; <sup>1</sup> Sugiama <sup>1</sup>; <sup>3</sup> Guzzo ML; <sup>7</sup> Santos AF; <sup>1</sup> Quintão ECR; <sup>1</sup> Nakandakare, E. R.; <sup>1</sup> Clínica Médica Endocrinologia FMUSP; <sup>2</sup> Radiobiologia IPEN; <sup>3</sup> Biotério USP; <sup>1</sup> Clínica Médica FMUSP

**Objetivo:**

Nagase analbuminemic rat (NAR) hyperlipidemia has mainly been characterized by increased total cholesterol (TC), triacylglycerol (TAG), free-fatty acids (FFA), and phospholipids (PL) plasma concentration. Thus, NAR and human analbuminemia are useful tools to understand whether alterations in composition and/or metabolism of high density lipoprotein (HDL) play a role in the regulation of the body cholesterol homeostasis that may explain the mechanisms of premature atherosclerosis in the human NS. The aim of this study is to Investigate whether the HDL composition is modified in NAR so as to justify the investigation of NAR's HDL efficiency in the removal of cell cholesterol.

**Métodos e Resultados:**

Blood was obtained by exsanguinations from the rat abdominal aorta. HDL was separated from plasma by sequential ultracentrifugation. The HDL protein content was determined according to Lowry's methods. HDL lysophosphatidylcholine (LPC), sphingomyelin (SM), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylserine (PS) and phosphatidiletanolamine (PE) fractions were separated by thin-layer chromatography and measured by the modified micro-procedure of Bartlett. TC and TAG were determined using commercially available kits.

Similarity of body weight (g) was observed between the experimental groups (NAR:  $377 \pm 26$ ; SDR:  $386 \pm 33$ ), however the following values were higher in NAR than in SDR: plasma TAG (mg/dL) (NAR:  $116 \pm 32$ ; SDR:  $56 \pm 18$ ), TC (mg/dL) (NAR:  $141 \pm 30$ ; SDR:  $73 \pm 14$ ) as well as HDL TAG (mg/dL) (NAR:  $3.94 \pm 0.78$ ; SDR:  $2.30 \pm 0.41$ ), HDL TC (mg/dL) (NAR:  $99 \pm 28$ ; SDR:  $37 \pm 13$ ), HDL PL ( $\mu\text{mol/mL}$ ) (NAR:  $1.56 \pm 0.17$ ; SDR:  $0.78 \pm 0.17$ ), and HDL protein (mg/dL) (NAR:  $119 \pm 30$ ; SDR:  $37 \pm 13$ ). HDL LPC ( $\mu\text{mol/mL}$ ) (NAR:  $0.064 \pm 0.012$ ; SDR:  $0.023 \pm 0.013$ ) and HDL PS ( $\mu\text{mol/mL}$ ) (NAR:  $0.102 \pm 0.048$ ; SDR:  $0.044 \pm 0.038$ ) were also higher in NAR, but HDL SM, PC, and PE concentrations did not differ between the two groups.

**Conclusões:**

Because NAR HDL are greatly modified we will investigate how alterations in the HDL metabolic profile described in NAR helps explaining disturbances of the reverse cholesterol transport system.

29.025

INGAP (ISLET NEOGENESIS ASSOCIATED PROTEIN) MODULA A EXPRESSÃO GÊNICA EM ILHOTAS PANCREÁTICAS DE RATOS NEONATOS. <sup>1</sup>Barbosa, H. C. L.; <sup>2</sup>Bordin, S.; <sup>1</sup>Stoppiglia, L. F. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup>Boschero, A. C.; <sup>1</sup>Fisiologia IB-UNICAMP; <sup>2</sup>IB-USP; <sup>3</sup>IB-UNICAMP

**Objetivo:**

A maturação da resposta secretória à glicose é induzida por diversas substâncias, principalmente por fatores de crescimento e hormônios. O INGAP, polipeptídeo componente da ilotropina, proteína associada ao crescimento e diferenciação do pâncreas endócrino sob estresse, promove aumento de secreção de insulina. O objetivo do trabalho foi analisar o efeito do INGAP sobre o padrão de expressão gênica em ilhotas pancreáticas de ratos neonatos em membrana de nylon contendo genes previamente fixados.

**Métodos e Resultados:**

O mRNA extraído de ilhotas, mantidas em cultura por 4 dias em meio contendo INGAP (5  $\mu\text{g/ml}$ ), foi hidridizado em membrana de nylon e esta analisada em programa específico. A expressão de alguns genes foi confirmada por RT-PCR e Western blot. Dentre 1176 genes fixados na membrana 47 foram “up-regulated” e apenas 3 “down-regulated”. Dentre os “up-regulated” estão: fatores e enzimas de transcrição (UFS1, HNF3b), canais iônicos e proteínas transportadoras ( $\text{K}^+$  channel protein,  $\text{Ca}^{++}$  transporting ATPase), enzimas do metabolismo de carboidratos e aminoácidos (IAPP, L-type pyruvate kinase), proteínas ribossomais, proteínas de processamento de mRNA, fatores de crescimento e hormônios (elongation factor 1 alpha, ribossomal proteins, PHAS-I, insulin) e proteínas associadas a receptores, quinases, fosfatases e proteínas G (MAPK/ ERKK1).

**Conclusões:**

O aumento, pelo INGAP, da expressão de fatores de transcrição e proteínas reguladoras, bem como de vários genes que codificam proteínas que controlam o processamento de mRNA e proteínas ribossomais, indica incremento na síntese protéica e atividade metabólica celular. Os resultados obtidos no array, confirmados por RT-PCR e Western blot, indicam que alguma(s) via(s) de maturação ou crescimento celular seja ativada na presença desse polipeptídeo.

29.026

TREINAMENTO FÍSICO LEVE, PROLONGADO E REGULAR AUMENTA A RESPOSTA SECRETÓRIA DE INSULINA POR ILHOTAS ISOLADAS, SEM ALTERAR O PESO E A GORDURA CORPORAL <sup>1</sup>Oliveira, E.R.L.; <sup>2</sup>Garcia Jr., JR.; <sup>1</sup>Carpinelli, A. R.; <sup>1</sup>Fisiologia e Biofísica ICB1-USP; <sup>2</sup>Educação Física UNOESTE

**Objetivo:**

Nosso objetivo foi verificar as variações no peso corporal ao longo de um ano de treinamento aeróbico e estabelecer as diferenças na gordura corporal e secreção de insulina ao final, já na senescência.

**Métodos e Resultados:**

Ratos albinos foram divididos em 2 grupos (n=5): sedentário (S) e treinado (T). O grupo treinado foi submetido a um treinamento de 1h por dia, 3 dias por semana, durante 1 ano. Foi controlado o peso corporal e, ao final os animais foram sacrificados em repouso para retirada do tecido adiposo epididimal e do pâncreas. As ilhotas foram isoladas e transferidas em grupos de 100 para câmaras de perfusão com filtro especial com poros. As ilhotas foram mantidas a 37°C e perfundidas numa razão constante de 1 mL/min por soluções com diferentes concentrações de glicose (5,6 e 16,7

mM) suplementadas com albumina bovina (0,5%) e gaseificadas com carbogênio. A perfusão até o 40° min foi realizada na presença de 5,6mM de glicose e do 40° até o 60° min na presença de 16,7 mM e do 60° até o 70° min foi na presença de 5,6 mM. O perfusato foi coletado em intervalos de um minuto, a partir do 30° até o 70° minuto (coletor ULTRORAC II LKB BROMA 2070). As alíquotas foram congeladas e armazenadas a -20°C para posterior dosagem de insulina por RIA. Usou-se o Teste *t* para análise das diferenças. Durante o período experimental o aumento do peso corporal (pc) do grupo S foi de 42,69% (de 332,8+/-53,9 para 474,8+/-48,5 g), semelhante ao aumento de 42,52% do grupo T (de 369,4+/-31,7 para 526,4+/-37,6 g). O peso do tecido adiposo epididimal foi de 5,12+/-1,90 g (1,04+/-0,28% do pc) no grupo S e de 4,80+/-1,21 g (0,91+/-0,18% do pc) no grupo treinado. A secreção de insulina pelas ilhotas perfundidas na presença de 16,7 mM de glicose apresentou aumento de 77,32% no grupo T ( $9,54 \pm 0,459$  Unidades Arbitrárias.ilhota<sup>-1</sup>.min<sup>-20</sup>) em relação ao S ( $5,38 \pm 0,303$  Unidades Arbitrárias.ilhota<sup>-1</sup>.min<sup>-20</sup>).

**Conclusões:**

Conclui-se que o treinamento físico com frequência de 3 vezes por semana não causa modificações significativas no peso e na gordura corporal. Por outro lado, as ilhotas dos animais idosos treinados secretam mais insulina do que dos animais idosos sedentários, quando estimuladas por uma sobrecarga de glicose.

29.027

ANALISE COMPARATIVA DE MANDIBULAS DE RATOS MACHOS E FEMEAS CASTRADOS, POR RX E MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA. <sup>1</sup> Armada, L. <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup> Nogueira, CRR <sup>^</sup>; <sup>1</sup> Neves, UL <sup>^</sup>; <sup>1</sup> Souza, PS <sup>^</sup>; <sup>1</sup> Detogne, JP <sup>^</sup>; <sup>2</sup> Armada-Dias, L.; <sup>2</sup> Moreira, R. M.; <sup>1</sup> Nascimento-Saba, C. C. A.; <sup>1</sup> Ciências Fisiológicas UERJ; <sup>2</sup> Ciências Fisiológicas UNESA

**Objetivo:**

O aumento da expectativa de vida, decorrente da evolução das práticas médicas tanto no campo diagnóstico como no terapêutico, vem elevando, continuamente, a ocorrência das alterações degenerativas comuns à terceira idade, onde se destaca a osteoporose. A relação entre a saúde dentária e a densidade mineral óssea é um novo campo de pesquisa. A prevenção e o tratamento da osteoporose é também útil para a manutenção da saúde dentária do paciente senil. O objetivo deste estudo foi comparar imagens radiográficas e de microscopia eletrônica de mandíbulas de ratos machos e fêmeas carentes em esteróides sexuais.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados ratos adultos, Wistar, três meses de idade. Parte dos animais foi submetida à castração, enquanto o grupo controle sofreu estresse cirúrgico. Após 90 dias, os ratos foram sacrificados e as mandíbulas foram excisadas e divididas em hemi-mandíbulas, onde o lado esquerdo foi preparado para a Microscopia Eletrônica de Varredura e o direito foi radiografado. Na avaliação radiológica qualitativa foi possível observar sinais de reabsorção óssea principalmente em fêmeas, porém quando realizada a análise quantitativa esses dados não foram estatisticamente significativos (♀: C=178± 3,43, OVX=167,1± 7,69, ♂: C=143,4 ± 9,25, Orq=140,4 ± 6,46). Com a finalidade de verificar as áreas radiolúcidas observadas ao Rx foi utilizada a técnica de Microscopia Eletrônica de Varredura. Esta análise sugeriu fragilidade óssea pela presença de fissuras em mandíbulas de animais castrados, sendo mais acentuada em fêmeas.

**Conclusões:**

A análise radiográfica não deve ser utilizada como único método de avaliação em casos de perda óssea inicial, já que não é suficientemente sensível para detectar o real aspecto ósseo.

29.028

EFEITO DA TRIIODOTIRONINA (T3) NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MATRINXÃ (*BRYCON CEPHALUS*). Hoshiba, M. A.; Camargo, A.C.S. <sup>\*\*</sup>; Urbinati, E.C; Morfologia e Fisiologia Animal FCAV-UNESP

**Objetivo:**

Os hormônios tireoidianos desempenham um papel significativo na embriogênese, morfogênese, crescimento e sobrevivência de larvas de peixes. No presente trabalho foram avaliados a taxa de fertilização, eclosão e o crescimento inicial das larvas de matrinxã (*Brycon cephalus*) tratados com triiodotironina (T3) aplicada na água de hidratação dos ovos.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizadas três fêmeas (2,2±0,3 Kg) e 2 machos (1,3 ±0,3 Kg) de matrinxã (*Brycon cephalus*). No momento da extrusão, os ovócitos foram misturados e fertilizados sendo posteriormente divididos em 4 alíquotas que constituíram os seguintes tratamentos: H1 (controle – 0 ppm T3); H2 (0,01ppm T3); H3 (0,05ppm T3) e H4 (0,1ppm T3). Os ovos foram hidratados durante 15 minutos e logo em seguida lavados e transferidos para as incubadoras onde permaneceram até a eclosão. Para a observação da taxa de fertilização, eclosão e desenvolvimento embrionário, as amostragens ocorreram aos 15 minutos, 6, 11, 13, 36, 60, 84, 108 e 156 horas após a extrusão. As taxas de fertilização estatisticamente mais altas foram registradas no tratamento H2 e H3, já a taxa de eclosão apresentou valor mais alto no tratamento H1 e diminuiu gradativamente nos tratamentos H2, H3, e H4 respectivamente. Em relação ao crescimento a triiodotironina somente apresentou efeito na amostragem de 6 e 11 horas após a extrusão. O diâmetro dos ovos foi maior no tratamento H4 para a amostragem de 6 horas e nos tratamentos H2 e H3 para as amostragens de 11 horas. O peso só apresentou alteração na amostragem de 15 minutos apresentando o H1 o menor valor em relação aos demais tratamentos. Não foram observadas diferenças no crescimento e peso das larvas.

**Conclusões:** A triiodotironina parece não ter afetado o crescimento e ganho de peso das larvas, apresentando diferenças significativas apenas no que se refere ao diâmetro dos ovos.

29.029

MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA COMPOSIÇÃO CORPORAL E ASSOCIAÇÕES COM OBESIDADE, RESISTÊNCIA INSULÍNICA E ANDROGÊNIOS EM PACIENTES HIRSUTAS <sup>1</sup> Toscani, MK <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup> Migliavacca, R <sup>\*</sup>; <sup>2</sup> Sisson de Castro, JA; <sup>1</sup> Sprintzer, P. M.; <sup>1</sup> Fisiologia UFRGS; <sup>2</sup> Endocrinologia UFRGS

**Objetivo:**

1) avaliar uma nova variável para estimativa de obesidade central; 2) verificar o impacto da resistência insulínica (RI) sobre a composição corporal e variáveis clínicas e metabólicas; 3) determinar a influência de androgênios sobre a associação entre RI e obesidade central numa amostra de mulheres obesas hirsutas.

**Métodos e Resultados:**

Foram estudadas 39 pacientes hirsutas, com IMC  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> e idades entre 14–41 anos. Dezessete tinham ciclos regulares e 19 apresentavam androgênios aumentados. As pacientes foram estratificadas pela presença ou não de RI usando como critério o HOMA ( $\geq 3,8$ ). Foi realizada avaliação nutricional, antropométrica, clínica e laboratorial. A composição corporal foi avaliada pelas medidas de dobras cutâneas (DOC) e absormetria de raio-X de dupla energia (DXA). Observou-se correlação positiva e significativa entre percentual de gordura pelas DOC e DXA total ( $r=0,755$ ;  $p<0,001$ ). Além disso, houve também forte correlação entre  $\Sigma$  DOC - tronco e DXA do tronco ( $r=0,867$ ;  $p=0,001$ ). O grupo com RI apresentou maior prevalência de obesidade central, níveis mais elevados de androgênios e LDL-colesterol. Verificou-se associação entre níveis de insulina e medidas de gordura do tronco ( $r=0,409$ ;  $p=0,010$ ), mas que perderam significância após ajuste pelo índice de androgênios livres ( $r=0,308$ ;  $p=0,068$ ).

**Conclusões:**

Os dados do presente estudo indicam uma boa correlação entre as medidas de DOC e de DXA total e de tronco em pacientes hirsutas. Além disso, a RI está associada com obesidade central, perfil mais androgênico e perfil lipídico mais desfavorável. Os androgênios, por sua vez, exercem influência positiva sobre a associação entre obesidade central e RI nestas pacientes.

29.030

METFORMINA IMPEDE A INDUÇÃO DE QUEBRAS DO DNA DE RATOS DIABÉTICOS TIPO 2. <sup>1</sup> Moura, E. G.; <sup>1</sup> Claudio, I.L.P. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Rodrigues, M. P. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Motta, ES <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Mattos, V.C. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Guedes, A.P. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Souza, V. <sup>\*</sup>; <sup>2</sup> Silva, C. R. <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup> Hassan, B.K. <sup>\*</sup>; <sup>1</sup> Lima, N.S. <sup>\*</sup>; <sup>2</sup> Mattos, J. C. P.; <sup>2</sup> Araújo, A. C.; <sup>1</sup> Ciências Fisiológicas UERJ; <sup>2</sup> Biofísica e Biometria UERJ

**Objetivo:**

O diabetes melito (DM) está associado com um aumento do estresse oxidativo, formando radicais livres que lesam o DNA. A Metformina (Met) é um hipoglicemiante oral, utilizado no tratamento do DM, que *in vivo* possui atividade antioxidante, agindo diretamente, pelo seqüestro de espécies reativas de oxigênio ou, indiretamente, pela modulação da produção intracelular de anion



superóxido. Este mecanismo antioxidante ainda não está completamente elucidado. Para avaliar as potencialidades genotóxica e antioxidante da Met em células de sangue periférico, fígado e rim, utilizamos um modelo de DM do tipo 2 (DM2).

**Métodos e Resultados:**

Ratos *Wistar* receberam estreptozotocina (90mg/Kg P.C.) no 5º dia de nascimento. Após 70 dias de nascidos, constatado o DM2, os grupos DM e Controles foram divididos em um sub-grupo tratado com Met (300mg/Kg) por gavagem, durante 10 dias– (DM2+Met) e outros dois sub-grupos que receberam água, por gavagem (C+H<sub>2</sub>O e DM2+H<sub>2</sub>O) no mesmo período. Amostras de sangue foram obtidas antes e depois do tratamento, e, após o sacrifício, foram retirados rim e fígado. Todo o material obtido foi analisado pelo ensaio do Cometa. A genotoxicidade no sangue foi 4 vezes maior no grupo DM2 em relação ao controle (p<0.001). O tratamento com Met no grupo DM2 reduziu a genotoxicidade a valores que não diferiam do controle (p>0.05). A genotoxicidade foi maior no fígado de ratos diabéticos (2,3 vezes, p<0,01), e, após tratamento com Met retornou a valores semelhantes aos do controle não diabético (p>0.05). O rim teve comportamento semelhante, com maior genotoxicidade no grupo DM2 (2,5 vezes, p<0,001) e valores que não diferiam do controle (p>0.05) no grupo tratado com Met.

**Conclusões:**

Estes dados indicam uma importante ação de proteção genotóxica em todos os tecidos analisados e de reversão da genotoxicidade pela Met em células de sangue periférico, o que confere também a esta droga um efeito adicional a sua ação hipoglicemiante, contribuindo assim para um melhor tratamento do paciente diabético, especialmente no controle de doenças associadas ao aumento do efeito oxidativo do diabetes.

29.031

EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS IS ENHANCED BY TESTOSTERONE DEFICIENCY AND ATTENUATED BY CETP EXPRESSION: STUDIES IN TRANSGENIC MICE <sup>1</sup> Casquero, A.C <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup> Berti, J. A.; <sup>1</sup> Salerno, A. G. <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup> Bighetti, E. J. B.; <sup>2</sup> Cazita, P. M.; <sup>3</sup> Gidlund, M. A.; <sup>1</sup> Oliveira, H. C. F.; <sup>1</sup> Fisiologia UNICAMP; <sup>2</sup> Lípides FMUSP; <sup>3</sup> Imunologia ICB IV USP

**Objetivo:**

In this work we investigated the effect of testosterone deficiency, in the presence and absence of CETP, on the lipoprotein profile and associated enzyme levels and tested the hypothesis that CETP could modulate the development of atherosclerosis in testosterone deficient male mice

**Métodos e Resultados:**

Adult transgenic mice expressing CETP and non-transgenic (nTg) littermates were studied 4 weeks after bilateral orchidectomy or sham-operation. Castrated mice had an increase in the LDL fraction: +36% for CETP (p<0.02) and +79% for nTg (p<0.001) mice, while the HDL fraction was reduced: -30% for CETP (p<0.002) and -11% for nTg (p<0.03) mice. Castrated mice presented 1.7 fold higher titers of auto-antibodies anti-oxidized LDL than sham operated controls (p<0.015). The plasma levels of CETP, lipoprotein lipase and hepatic lipase were not changed by castration. Kinetic studies showed that the elevation in LDL in testosterone deficient mice could not be explained by changes in the production rate of VLDL or in the lipolysis mediated VLDL-LDL conversion rate or in the number of LDL receptors. The development of atherosclerosis was assessed in mice with partial deficiency of the LDL receptor, expressing CETP or not, after 10 weeks on a hypercholesterolemic diet. Morphometric analysis showed that testosterone deficiency induced an increase of about 100% in aortic atherosclerotic lesion area of castrated mice (p<0.02), while CETP expression reduced significantly the lesion area in castrated mice (- 44%, p<0.05).

**Conclusões:**

We showed that testosterone deficiency increased plasma levels of apoB containing lipoproteins and antibodies anti-oxidized LDL and doubled the size of diet induced atherosclerotic lesions. The expression of CETP led to a milder elevation of apoB containing lipoproteins and to a significant reduction in atherosclerotic lesion size in testosterone deficient mice.

29.032

EFEITO DO ESTRADIOL SOBRE A SENSIBILIDADE INSULÍNICA DE RATAS ESPONTANEAMENTE HIPERTENSAS (SHR). Abeles E.G. <sup>\*\*</sup>; A. M. Reis ; Pesquero, J.L. ; Botion, L. M. ; Fisiologia e Biofísica UFMG

**Objetivo:**

Tem sido verificado que a ovariectomia diminui a tolerância à glicose e que a reposição hormonal reverte este efeito. Outros estudos mostram redução da captação de glicose estimulada pela insulina em adipócitos de ratos espontaneamente hipertensos (SHR). O objetivo deste trabalho foi avaliar, em ratos ovariectomizados, a sensibilidade insulínica do sistema de transporte de glicose e da atividade lipolítica dos tecidos adiposos (TA) mesentérico e periuterino.

**Métodos e Resultados:**

Ratas espontaneamente hipertensas (SHR) foram submetidas a ovariectomia e posterior reposição com estradiol (E; 5 µg/100g PC) ou com o veículo (Óleo) durante 4 dias. O efeito antilipolítico da insulina foi avaliado em adipócitos obtidos dos tecidos adiposos mesentérico e periuterino após estímulo com 0,1 µM isoproterenol. A captação de 2-deoxi-[<sup>3</sup>H]glicose foi utilizada para determinar o efeito da insulina (25 ng/ml) sobre a captação de glicose. A administração de estradiol aumentou em 185% a captação de glicose estimulada pela insulina e produziu uma diminuição de 50% na liberação de glicerol pelo tecido adiposo mesentérico. No que se refere ao tecido periuterino, o tratamento com estradiol elevou em 100% a liberação basal de glicerol e não produziu efeito sobre a captação de 2-deoxi-[<sup>3</sup>H]glicose em adipócitos.

**Conclusões:**

A reposição com estradiol aumentou a sensibilidade insulínica do tecido adiposo mesentérico de ratas SHR.

29.033

A inervação simpática participa da regulação da expressão do mRNA do GLUT4 no tecido adiposo marrom. <sup>1</sup> Nascimento, M. E. C.; <sup>2</sup> Machado, U. F.; <sup>1</sup> Ciências Biomédicas, USP; <sup>2</sup> Biofísica e Fisiologia ICB1, USP

**Objetivo:**

O sistema nervoso simpático, que ricamente inerva o tecido adiposo marrom (BAT), desempenha um papel importante na regulação da termogênese através das catecolaminas. Além disso, tem sido proposto que o gene do GLUT4 pode ser regulado pela atividade simpática. Objetivo: verificar o efeito da inervação simpática na regulação do gene do GLUT4 no jejum e durante a realimentação. Investigar alterações morfo-estruturais no tecido.

**Métodos e Resultados:**

Foram estudados ratos Wistar alimentados livremente (A), jejuados por 48h (J) e jejuados por 48h e então realimentados por 12(D), 24(V) e 36(T) horas, nos quais foi feita a hemidesnervação simpática do BAT 6 dias antes da separação dos grupos. Os tecidos foram processados para extração do RNA total utilizando-se Trizol, de acordo com instruções do fabricante, e o mRNA do GLUT4 foi quantificado pela técnica de Northern blot. Os animais alimentados livremente apresentaram ganho de peso de 4% em 48h, enquanto os jejuados perderam 13% no mesmo período ( $P<0,05$ ). Não foram observadas modificações no BAT induzidas pelo jejum de 48h. As metades do BAT que foram desnervadas apresentaram-se mais pálidas, 20% mais leves ( $P<0,0001$ ) e com 92% de redução de noradrenalina, se comparadas às metades contralaterais intactas ( $P<0,01$ ). A desnervação reduziu o mRNA do GLUT4 no estado alimentado (~25%  $P<0,05$ ) e o jejum também reduziu a expressão do mRNA (50%  $P<0,0001$ ). A realimentação promoveu um aumento no mRNA do GLUT4 (4 vezes  $P<0,001$ ) nas metades inervadas, enquanto nenhuma alteração foi observada nas desnervadas.

**Conclusões:** A realimentação pós jejum induz uma superexpressão do mRNA do GLUT4, o que é dependente da inervação simpática.

29.034

PCR EM TEMPO REAL NA QUANTIFICAÇÃO DO PEPTÍDEO NATRIURÉTICO ATRIAL EM RATAS <sup>1</sup> Gouvêa, M.P.; <sup>2</sup> Doretto, M.C.; <sup>3</sup> Reis, A.M.; <sup>4</sup> Martins, A.S.; <sup>1</sup> Fisiologia, ICB/UFMG; <sup>2,3,4</sup> Fisiologia, UFMG

**Objetivo:**

A detecção e quantificação da expressão do peptídeo natriurético atrial (ANP) é essencial ao seu estudo, pois existe grande variabilidade na produção, estabilidade e tradução de mRNA para o ANP em cada tecido. O PCR em Tempo Real apresenta alta sensibilidade, permitindo detectar a presença de expressão gênica não detectável por métodos convencionais como RT-

PCR. Entretanto, o estudo da expressão do ANP com o uso desta metodologia ainda é incipiente. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um protocolo sensível e rápido para estudo do ANP em tecidos de ratas.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizadas ratas Wistar (n=12) pesando 230-270g. Após a decapitação, os átrios foram retirados e congelados em nitrogênio líquido e mantidos a -80°C até a extração do RNA total. RT-PCR convencional foi realizado para comprovação da eficiência dos *primers* para o ANP selecionados por análise em bancos de dados. Os *amplicons* do ANP obtidos por PCR foram purificados e utilizados para construção da curva-padrão no PCR em Tempo Real. Para normalização da expressão do ANP, utilizou-se gliceraldeído fosfato desidrogenase (GAPDH). O *amplicon* de 95 pb do ANP amplificado a partir do cDNA de tecido atrial apresentou a clássica curva logarítmica com um Ct (total de ciclos) em torno de 19-20 ciclos. Os dados obtidos demonstram que a expressão de cada amostra pode ser quantificada. A curva de dissociação das amostras confirmou a qualidade, tamanho e especificidade dos fragmentos amplificados do ANP pelo PCR em Tempo Real.

**Conclusões:**

O ensaio de PCR em Tempo Real apresentado neste trabalho mostrou-se específico, sensível e reprodutível. O protocolo utilizado simplificará o estudo da expressão do ANP. A presente metodologia demonstra ser mais acurada, mais informativa e menos laboriosa do que os métodos clássicos de *Northern Blot* e RT-PCR convencional.

29.035

IMPROVED PSEUDOISLETS INSULIN SECRETION PATTERN IN RESPONSE TO NUTRIENTS AND NON-NUTRIENTS IS DETERMINED BY HOMOTYPIC  $\beta$ -CELL- $\beta$ -CELL CONTACT. <sup>1</sup> Souza, K. L.; <sup>1</sup> Jorns, A.; <sup>1</sup> Lenzen, S.; <sup>2</sup> Luther, M.J.; <sup>2</sup> Hauge-Evans, A.; <sup>2</sup> Roberts, G.; <sup>2</sup> Christie, M.; <sup>2</sup> Amiel, S.; <sup>2</sup> Huang, G-C.; <sup>2</sup> Persaud, S.J.; <sup>2</sup> Jones, P.M.; <sup>1</sup> Institute für Klinische Biochemie, Medizinische Hochschule Hannover; <sup>2</sup> Diabetes, Kings College London, UK

**Objetivo:**

Insulin-secreting MIN6 cells show greatly enhanced secretory responsiveness to nutrients when grown as islet-like structures (pseudoislets), as compared to equivalent cells configured as monolayers. We have therefore investigated the role of homotypic b-cell interactions on secretory responses to nutrient and pharmacological or receptor-operated non-nutrient stimuli in MIN6 pseudoislets, in pseudoislets formed from the bTC3 insulin-secreting cell line, and in human primary islets.

**Métodos e Resultados:**

Analysis of the ultrastructure of MIN6 pseudoislets and monolayers by electron microscopy revealed that pseudoislet cells contained more rough endoplasmic reticulum and that their insulin secretory granules were located close to the sites of exocytotic release. Real time PCR analysis showed that preproinsulin mRNA was upregulated in pseudoislet cells compared to monolayers, but no changes were observed in connexin 36 or glucokinase mRNA expression. MIN6 pseudoislets showed greatly enhanced insulin secretory responsiveness to glucose, and this phenomenon was also observed in experiments using bTC3 cell-derived pseudoislets. Furthermore, MIN6 pseudoislets exhibited enhanced insulin secretory responses to elevated extracellular K<sup>+</sup>, tolbutamide, PMA, forskolin and carbachol, and the improved secretory responsiveness was dependent on the cells being configured as pseudoislets.

**Conclusões:**

These observations emphasize the importance of islet anatomy on secretory responsiveness, and demonstrate that homotypic b-cell interactions play an important role in generating physiologically appropriate insulin secretory responses.

29.036

EXPRESSÃO DO GENE DA AROMATASE EM FOLÍCULOS PILOSOS DO ESCALPO DE PACIENTES HIRSUTAS COM SÍNDROME DOS OVÁRIOS POLICÍSTICOS (PCOS). <sup>1</sup> Maier, P.S.; <sup>2</sup> Oliveira, I.; <sup>3</sup> Morsch, M.; <sup>4</sup> Spritzer, P. M.; <sup>1,3</sup> Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>2</sup> Fisiologia e Farmacologia, UFPEL; <sup>4</sup> Fisiologia, UFRGS

**Objetivo:**

Mulheres hiperandrogênicas apresentam maior atividade da enzima 5 $\alpha$ -reductase (que converte testosterona em DHT) no folículo piloso. Recentemente, demonstramos que a expressão gênica da enzima 17- $\beta$  HSD2 (conversão de testosterona em androstenediona) também era maior no folículo piloso de pacientes hirsutas em relação a controles normais. A aromatase, converte androgênios em estrogênios nos ovários e tecidos periféricos. Assim, no presente estudo, avaliamos a expressão do gene da aromatase em folículos pilosos de pacientes com excesso de androgênios e anovulação crônica (Síndrome dos Ovários Policísticos - PCOS) em comparação com mulheres normais (controles).

#### **Métodos e Resultados:**

Os folículos pilosos foram obtidos por arrancamento na região do escalpo, em 8 pacientes com PCOS e 7 mulheres com ciclos menstruais regulares, sem hirsutismo, acne ou alopecia. O RNA total foi extraído com TRIZOL (GIBCO) e feita a reação de RT-PCR. A análise semi-quantitativa foi baseada na relação gene alvo/gene da  $\beta_2$ -microglobulina. Os níveis de mRNA da aromatase foram significativamente maiores nas pacientes com PCOS ( $1,52 \pm 0,08$ ) do que nas mulheres controles ( $1,13 \pm 0,1$ ;  $p = 0,008$ ).

#### **Conclusões:**

A maior expressão do gene da aromatase em folículos pilosos do escalpo de pacientes hirsutas com PCOS pode ser um epi-fenômeno decorrente do estímulo ocasionado por uma maior oferta de androgênios encontrada no soro de tais pacientes. Estudos subsequentes, utilizando pacientes hirsutas de outras etiologias, poderão determinar se os dados do presente estudo tem relevância clínica e estão associados com mecanismos compensatórios ao excesso de exposição da célula pilosa aos androgênios.

29.037

EFEITO DA OBESIDADE-MSG NA SECREÇÃO DE INSULINA ESTIMULADA POR ACETILCOLINA. <sup>1</sup> Grassioli, S.; <sup>2</sup> Marçal, A.C. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Rocha, N. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Puzzi, M.A. <sup>\*</sup>; <sup>5</sup> Scomparin, X. <sup>\*\*</sup>; <sup>6</sup> Mathias, P.C.F.; <sup>1, 2, 3</sup> Biologia Celular e Genética, UEM; <sup>4, 5, 6</sup> Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá

#### **Objetivo:**

A secreção de insulina dependente de glicose é modulada por diferentes neurotransmissores, dos quais a acetilcolina (ACh) tem um papel proeminente. Os efeitos potencializadores da ACh apresentam características diferenciadas dependendo do estado funcional da célula  $\beta$ . Nosso objetivo foi avaliar a curva dose-resposta a ACh em ilhotas isoladas durante a evolução da obesidade-MSG.

#### **Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar recém nascidos foram tratados com Glutamato Monossódico (MSG) durante 5 dias (4g/Kg/dia). Controles (C) receberam salina. Aos 30, 60 e 90 dias ilhotas pancreáticas foram isoladas pela técnica da colagenase e incubadas na presença de glicose (8,3mM) + ACh em diferentes concentrações (0,01-3000 $\mu$ M). Neostigmina (10 $\mu$ M) foi usado como agente anticolinesterásico. Os dados foram processados no Graph-Pad Prism para obtenção de curvas e para análises estatísticas (ANOVA). A sensibilidade a ACh não foi alterada pela idade, nem pelo tratamento com MSG. Todavia, a resposta-máxima a ACh foi 70%, 85% e 92% maior nas ilhotas de animais C, comparado aos MSG, respectivamente aos 30, 60 e 90 dias de vida ( $p < 0,0001$ ). Em animais magros jovens (30 dias) a resposta-máxima das ilhotas a ACh foi maior 70% e 25% em relação aos 60 e 90 dias respectivamente ( $p < 0,001$ ). Nos animais obesos-MSG a redução na resposta-máxima das ilhotas a ACh foi mais evidente com o desenvolvimento, ocorrendo uma redução de 80% e 74% na resposta-máxima a ACh aos 60 e 90 dias respectivamente, em relação aos animais MSG jovens ( $p < 0,001$ ). O peso de ambas gorduras foi em média 190% maior nos animais obesos-MSG em relação aos C, em todas as idades ( $p < 0,001$ ). Em animais magros o desenvolvimento aumentou o peso das gorduras 165% e 260%, respectivamente aos 60 e 90 dias em relação aos C 30 dias ( $p < 0,0001$ ). No grupo obeso este aumento foi mais evidente sendo 225% e 375% maior em animais adultos com 60 e 90 dias respectivamente, comparados aos MSG com 30 dias ( $p < 0,0001$ ).

#### **Conclusões:**

A resposta a ACh é atenuada durante o desenvolvimento dos ratos magros, porém no obesos este efeito é antecipado. O estado funcional das células  $\beta$  pancreáticas parece ser influenciado pela intensa vagotonia na obesidade MSG.

29.038

ANÁLISE DO DESEQUILÍBRIO DE INATIVAÇÃO DO CROMOSSOMO X EM MULHERES DE DIFERENTES IDADES. <sup>1</sup> Brum, I. S.; <sup>2</sup> Morsch, M.; <sup>3</sup> Spritzer, P. M.; <sup>1</sup> Fisiologia, UFRGS; <sup>2</sup> Fisiologia, UFRGS; <sup>3</sup> Fisiologia, UFRGS

**Objetivo:**

Os mecanismos relacionados com o processo de inativação do cromossomo X em diferentes tecidos femininos é um tema controverso. Nosso objetivo neste trabalho é avaliar se existe associação entre o desequilíbrio de inativação do cromossomo X e a idade em pacientes femininas.

**Métodos e Resultados:**

Foram incluídas 120 mulheres consultando na Unidade de Endocrinologia Ginecológica do HCPA por diferentes patologias e divididas em 3 grupos: grupo 1 (11 à 20 anos), grupo 2, (21 à 43 anos) e grupo 3 (47 à 70 anos). O DNA foi extraído de leucócitos de sangue periférico. A avaliação de inativação do cromossomo X foi realizada a partir da amplificação por PCR do trato poliglutamínico (CAG) do receptor de androgênio (AR) em DNA íntegro e digerido com a enzima de restrição HpaII. Esta enzima atua sobre um sítio de restrição no AR não metilado, ou seja, o AR ativo. A análise dos fragmentos amplificados por PCR foi realizada com o programa GeneMapper no seqüenciador automático ABI3100-Avant. O percentual de atividade do AR, considerado como sendo desequilíbrio, foi de 80%. Os dados são apresentados como percentual de pacientes que apresentam desequilíbrio em cada grupo. A associação de linearidade entre desequilíbrio de inativação e idade foi avaliada pelo teste do  $X^2$ . Os resultados obtidos foram: grupo 1, 12,8 % (5 de 39) apresentaram desequilíbrio de inativação do X, grupo 2, 13,6 % (6 de 44) e grupo 3, 29,7 % (11 de 37);  $X^2 = 3,53$  e  $p=0,060$ .

**Conclusões:**

Os dados do presente estudo mostram uma associação marginal entre o percentual de inativação do cromossomo X e a idade nestas mulheres. Embora os resultados ainda não tenham atingido um nível de significância estatística, provavelmente devido ao tamanho da amostra, a idade deve ser levada em consideração quando DNA de sangue periférico é utilizado para estudo de patologias relacionadas ao cromossomo X.

Apoio Financeiro: PRONEX/CNPq

29.039

EFEITO DA EXPOSIÇÃO AÉREA REPETIDA NAS RESPOSTAS DE ESTRESSE EM PACU, *PIRACATUS MESOPOTAMICUS*. <sup>1</sup> Biller, JD; <sup>2</sup> Takahashi, LS<sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Urbinati, EC; <sup>1,2,3</sup> Morfologia e Fisiologia ANIMAL, Fac. de Ciências Agrárias e Veterinária UNESP

**Objetivo:**

A exposição aérea é um dos fatores estressantes presentes no manejo dos peixes, acarretando desequilíbrio na sua homeostase fisiológica. O objetivo do trabalho foi avaliar os teores corporais de cortisol e íons, indicadores de estresse em pacus submetidos a exposição aérea repetida.

**Métodos e Resultados:**

Os peixes ( $5,2 \pm 1,5g$ ) foram aclimatados em 21 aquários (60L) revestidos internamente por uma estrutura de tela (para exposição aérea dos animais). Foram amostrados juvenis ( $n=6$ ) na condição inicial (anterior à exposição), aos 5, 15 30, 60min, 24 e 48h após suspensão por 60s. Após 24h da primeira exposição, todos os peixes, exceto os da 48h, foram submetidos à nova exposição (60s) e amostrados nos mesmos tempos das amostragens anteriores. Por serem peixes muito pequenos e pela dificuldade em se obter quantidade de sangue necessária para as análises, os indicadores de estresse cortisol, sódio (Na), cálcio (Ca) e potássio (K) foram avaliados nos tecidos corporais. Na primeira exposição aérea, foi observado um aumento na concentração de cortisol aos 15min após a exposição ( $24,7 \pm 3,3ng\ g^{-1}$ ) em relação à condição inicial ( $13,2 \pm 1,4ng\ g^{-1}$ ), embora sem diferenças significativas. Na exposição repetida, um aumento significativo foi verificado aos 5min ( $49,5 \pm 10,4ng\ g^{-1}$ ) após a exposição, com retorno à condição inicial aos 30min ( $22,1 \pm 4,0ng\ g^{-1}$ ). O teor de Ca corporal diminuiu significativamente aos 5min após as exposições (de  $48,8 \pm 0,6$  para

39,6±0,6g kg<sup>-1</sup>) retornando a condição inicial aos 15min após exposições (40,7±0,6g kg<sup>-1</sup>). Os teores corporais de Na e K apresentaram pequenas flutuações.

**Conclusões:**

A concentração de cortisol tecidual em juvenis de pacus mostrou um perfil claro de resposta ao agente estressor, sugerindo ser um indicador sensível, além de evidenciar uma sensibilização dos peixes na exposição repetida. Os teores de íons corporais não permitiram conclusões apuradas, indicando não serem parâmetros sensíveis para avaliação de estresse.

29.040

EFEITO DO AMBIENTE PÓS-TRANSPORTE NO PERFIL DE CORTISOL E GLICOSE SANGUÍNEOS DE PACUS JUVENIS, *PIARACTUS MESOPOTAMICUS*. <sup>1</sup> Takahashi, LS; <sup>2</sup> Biller, JD \*; <sup>3</sup> Urbinati, EC; <sup>1,2,3</sup> Morfologia e Fisiologia ANIMAL, Fac. de Ciências Agrárias e Veterinária UNESP

**Objetivo:**

O transporte é uma prática de manejo que expõe os peixes a uma série de estímulos adversos, desencadeando respostas fisiológicas na busca da adaptação do animal à nova condição. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do ambiente pós-transporte no perfil de indicadores de estresse, como cortisol e glicose sanguínea, em pacus juvenis.

**Métodos e Resultados:**

Pacus juvenis (n=910, PV=27,8±0,9g) foram transportados em sacos de polietileno de 80L (n=13, densidade de 70 peixes/saco), com 20L de H<sub>2</sub>O e 60L de O<sub>2</sub>, de uma propriedade em Mococa, SP, ao Centro de Aqüicultura da UNESP em Jaboticabal, SP, num percurso de 185 Km, com duração de 2h30m. Na chegada, peixes de 5 sacos (n=350) foram soltos em um tanque de cultivo de 150m<sup>2</sup> e de 8 sacos em 24 caixas plásticas de 100L (densidade de 22 peixes/caixa), em condições de laboratório. Amostras de sangue dos peixes (n=8) foram coletadas na chegada, às 24, 72, 120 e 168 hs após a chegada, tanto em peixes do tanque como das caixas. Foram avaliados o cortisol e a glicose do sangue. Não foi observada mortalidade até 168 hs após o transporte. Comparando-se os valores de cortisol (33,6±6,2 ng L<sup>-1</sup>) observados na chegada, houve significativa redução às 24 hs, tanto para os peixes do tanque (7,0±1,0 ng L<sup>-1</sup>) como das caixas (13,9±2,1 ng L<sup>-1</sup>). A glicemia registrada na chegada (5,5±0,5 mmol L<sup>-1</sup>) reduziu significativamente às 72 hs nos peixes do tanque (3,5±0,3 mmol L<sup>-1</sup>) e às 120 hs nos peixes das caixas (3,3±0,1 mmol L<sup>-1</sup>). A redução dos níveis circulantes pós-transporte de cortisol e glicose foi mais rápida e evidente no grupo de peixes soltos no tanque de cultivo especialmente com relação à glicose sanguínea.

**Conclusões:**

No período pós-transporte ou de recuperação (72 hs após chegada), os níveis de cortisol e glicose sanguínea de pacus juvenis tendem a reduzir, sendo esta redução mais rápida quando os peixes são colocados em condições ambientais naturais.

29.041

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO DO GENE DO GLUT4 PELA ATIVIDADE CONTRÁTIL EM MÚSCULO SÓLEO. <sup>1</sup> Lima, G.A; <sup>2</sup> Giannocco, G. \*\*; <sup>3</sup> Machado, U. F.; <sup>1</sup> Fisiologia ICB, Instituto de Ciências Biomédicas; <sup>2,3</sup> Biofísica e Fisiologia ICB1, USP

**Objetivo:**

Investigar se o aumento da expressão do mRNA do GLUT4 induzido pela contração muscular depende dos fatores transcrpcionais MEF2A, MEF2D e HIF1-a.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados ratos Wistar de 2 meses, submetidos a um jejum de 48h. Logo após os músculos sóleos foram retirados e incubados com tampão Krebs-Henseleit à 37°C. Depois de 40 minutos de incubação, o tampão foi trocado e o músculo direito foi estimulado eletricamente com estímulo supra-máximo por 10 segundos com intervalos de 50 segundos por 10 vezes. Após a estimulação os músculos permaneceram no tampão por mais 20 minutos, e então foram estocados em freezer -70°C. Posteriormente foi retirado um extrato de proteínas nucleares dos tecidos com base no método descrito por ANDREWS e FALLER (1991). Para estudo do HIF1-a foi utilizado como sonda o oligonucleotídeo Ebox, e para estudo dos MEF2A e MEF2D foi utilizado como sonda oligonucleotídeo AT element. As sondas foram marcadas com P<sup>32</sup>-γ ATP. Na incubação, 15µg de proteínas nucleares foram adicionadas a 6µl de tampão de ligação, 1,5 µg de Poli dl-dC, 1µl de

sonda marcada radioativamente, 4 $\mu$ l de sonda não marcada (apenas nos competidores) e água bidestilada autoclavada para completar o volume final para 15 $\mu$ l. Realizou-se então a eletroforese em gel de poli-acrilamida. Após a eletroforese o gel foi transferido para uma folha de papel Whatman, secado à vácuo e exposto a um filme RX em cassete. Com a sonda Ebox, observou-se um aumento da ligação de 30% nos músculos estimulados. Já com a sonda AT-element, observou-se um aumento da ligação de 50 % nos estimulados. O desaparecimento da sonda nos competidores demonstrou a especificidade dos oligonucleotídeos.

#### **Conclusões:**

Os resultados apontam que houve uma maior capacidade de ligação dos MEF2 e do HIF1-a aos seus respectivos oligonucleotídeos nos tecidos que sofreram o estímulo elétrico, indicando que estes fatores participam da regulação do GLUT4 induzida pela contração muscular.

29.042

GERAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO CAMUNDONGO DUPLO NOCAUTE PARA OS GENES DA LEPTINA E RECEPTOR B1 DE CININAS. <sup>1</sup> Sgai, G.; <sup>2</sup> Reis, F. C. G.; <sup>3</sup> Mori, M. A. S.; <sup>4</sup> Batista, E. C.; <sup>5</sup> Bader, M.; <sup>6</sup> Pesquero, J. B.; <sup>7</sup> Araujo, R. C.; <sup>1</sup> CIIB Centro Interdisciplinar Invest. Bioquímica, UMC; <sup>2, 4, 7</sup> Centro Interdisciplinar de Investigação Bioquímica, UMC; <sup>3, 6</sup> Biofísica, UNIFESP; <sup>5</sup>, Max-Delbrück Center for Molec. Med., Berlin, Alemanha

#### **Objetivo:**

Geração do camundongo duplo nocaute para os genes da leptina e receptor B1 de cininas (*ob/ob*; B1-/-), visando estabelecer o papel deste receptor em modelo de obesidade mórbida e diabetes tipo II.

#### **Métodos e Resultados:**

Os camundongos C57B6, machos nocaute para o receptor B1 de cininas e fêmeas heterozigotas OB/*ob*, foram obtidos no Departamento de Biofísica da UNIFESP/EPM. Foram feitos cruzamentos sucessivos entre os animais acima, e obtivemos filhotes OB/*ob*; B1+/- . Estes animais, heterozigotos para ambos os genes, foram cruzados entre si, gerando o camundongo duplo nocaute (*ob/ob*; B1KO). Antes de todos os cruzamentos os animais foram genotipados. Para tanto, o DNA genômico era extraído, seguido da amplificação do gene da leptina por PCR. O produto era submetido à digestão pela enzima *DdeI* para identificação da mutação no gene da leptina. O DNA dos animais positivos era submetido ao processo de PCR para os genes do receptor B1 e do cassete de neomicina inserido nos animais B1KO. Foram realizados testes de tolerância à glicose, através da administração de 1mg de glicose por grama de peso vivo, nos camundongos *ob/ob* B1KO (n=5) e *ob/ob* B1+/+ (n=5). A glicemia foi dosada nos tempos zero, 15, 30, 60, 120 e 180 minutos. Os *ob/ob* B1KO apresentaram níveis glicêmicos mais baixos em relação aos *ob/ob* B1+/+, com diferenças significativas a partir de 60 minutos (p<0,05).

#### **Conclusões:**

O teste de tolerância à glicose indicou maior captação de glicose nos animais obesos *ob/ob* B1KO em relação aos *ob/ob* B1+/+, sugerindo a ligação do receptor B1 com o diabetes tipo II.

29.043

ESTIMULAÇÃO ELÉTRICA MELHORA A DENSIDADE MINERAL ÓSSEA EM RATAS OVARECTOMIZADAS <sup>1</sup> Lirani, A. P. R.; <sup>2</sup> Lazaretti-Castro, M.; <sup>3</sup> Bergamaschi, C. M. T.; <sup>1</sup> Medicine, UNIFESP; <sup>2</sup> Medicina Interna, UNIFESP; <sup>3</sup> Fisiologia Cardiovascular, UNIFESP

#### **Objetivo:**

A osteoporose e suas conseqüentes fraturas já são um problema médico-social grave, com perspectivas de piora com o progressivo aumento da expectativa de vida. Sua decorrente morbimortalidade traz grandes prejuízos econômicos e sociais, e acomete, em sua maioria, mulheres pós-menopausadas. Logo, busca-se formas eficientes de prevenção e tratamento desta doença, que se associem a menores custo e efeitos colaterais. O campo elétrico é capaz de estimular a osteogênese em ossos saudáveis, mas pouco se sabe sobre sua atuação em tecidos osteoporóticos. Objetivo: Analisar, através de densitometria óssea, os efeitos da estimulação elétrica de baixa intensidade em ratas Wistar adulto-jovens ovariectomizadas.

#### **Métodos e Resultados:**

Foram utilizadas 30 ratas (220 $\pm$ 10g) divididas em 3 grupos de 10: um grupo de cirurgia simulada ("sham"), um grupo "controle", submetido à ovariectomia bilateral e mantido sem tratamento e o

grupo de ratas submetidas à ovariectomia bilateral e à “estimulação elétrica (OEE)” em 55 sessões de 20 minutos de um campo elétrico pulsado de baixa intensidade (1,5MHz, ciclo de trabalho 1:4, 30 mW/cm<sup>2</sup>) a partir do 7° dia pós-cirúrgico, 5 vezes por semana. Foi utilizada a absorciometria por raio X de dupla energia em corpo total, coluna vertebral e membro inferior no início e no final do protocolo (77°P.O). Os grupos sham e OEE obtiveram ganho significativo (p<0.05) de densidade mineral óssea (DMO) (g/cm<sup>2</sup>) total, respectivamente, de 7,55±0,87 e 5,59±1,35 (delta percentual), o que não ocorreu com o grupo controle (ganho de 3,30%±1,10), que também foi estatisticamente menor que o ganho dos outros dois grupos. O grupo OEE apresentou conteúdo mineral ósseo+massa magra (g) total (218,54±6,71) e de membro inferior (20,20±0,76) significativamente maiores que o grupo controle (189,94±6,01 e 15,96±0,79) no 77° P.O.

**Conclusões:**

A estimulação elétrica melhora os índices DMO e conteúdo mineral ósseo+massa magra neste modelo de ratas ovariectomizadas.

29.044

TRATAMENTO CRÔNICO COM GLIMEPIRIDE MELHORA A SENSIBILIDADE INSULÍNICA PERIFÉRICA SEM AUMENTAR A DEPOSIÇÃO DE GORDURA – REGULAÇÃO TECIDO-ESPECÍFICA DA EXPRESSÃO DO GENE DO GLUT4. <sup>1</sup> Mori, R.C.T.; <sup>2</sup> Machado, U. F.; <sup>1</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP; <sup>2</sup> Biofísica e Fisiologia ICB1, USP

**Objetivo:**

O potente efeito anti-hiperglicemiante do glimepiride tem sido relacionado a uma possível ação periférica, melhorando a sensibilidade à insulina. De fato, esta droga estimula a translocação do GLUT4 *in vitro*, mas os mecanismos moleculares acionados na regulação crônica deste transportador são desconhecidos.

**Objetivos:** Investigar, em ratos resistentes à insulina, o efeito do glimepiride sobre a expressão do GLUT4 em tecidos insulino-sensíveis.

**Métodos e Resultados:**

Resistência à insulina foi induzida por tratamento neonatal com glutamato monossódico (MSG – 4mg/g/dia, s.c.). Parte dos animais adultos recebeu glimepiride (G– 0,1mg/kg/dia, na água de beber, 4 semanas). Realizaram-se testes de tolerância à insulina (ITT) e análise do conteúdo de GLUT4 e seu mRNA. A glicemia basal, antes da sobrecarga hormonal do ITT, foi de ~115mg/dl para todos os grupos, mas a kitt dos MSG (3,26%/min) foi menor (p< 0,05 vs. C: 4,67%/min; CG: 4,68%/min e MSG/G: 4,53%/min). Quanto ao GLUT4, no tecido adiposo branco (WAT), os MSG apresentaram expressão elevada da proteína (120%) e mRNA (30%) em relação ao grupo C, efeito este revertido pelo tratamento com G. No músculo solear, os MSG apresentaram elevação de 30% do RNA do GLUT4, mas a expressão da proteína foi semelhante a C, elevando-se em 50% após tratamento com G. Também nos animais controle, G elevou o conteúdo da proteína GLUT4 (CG 70%>C) e do mRNA (CG 35%>C) no sóleo, embora não tenha afetado a expressão do transportador no WAT deste mesmo grupo. O glimepiride melhorou a sensibilidade à insulina induzida pelo MSG através do aumento da expressão da proteína GLUT4 no sóleo. No entanto, no WAT, provocou uma menor expressão do transportador, sugerindo uma resistência insulínica tecidual, que pode ser importante para evitar a exacerbação da obesidade.

29.045

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO GLUT4 PELO FATOR TRANSCRICIONAL NUCLEAR FACTOR -KAPPA B (NF-KB) NO MÚSCULO SÓLEO. <sup>1</sup> Moraes, PAC; <sup>2</sup> Furuya, T. \*\*; <sup>3</sup> Lima, G. A.; <sup>4</sup> Machado, U. F.; <sup>1</sup> Instituto de Ciências Biológicas, USP; <sup>2,3,4</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP

**Objetivo:**

O conhecimento dos mecanismos envolvidos na expressão do gene do GLUT4 proporcionará a possibilidade de controlá-lo, contribuindo assim para corrigir alterações de sensibilidade à insulina que ocorrem na obesidade e/ou diabetes mellitus. O NF-kB, um fator transcricional mediador de vários fatores inflamatórios, tem sido proposto como regulador do gene do GLUT4. Neste estudo, investigou-se a possibilidade de modulação da expressão do gene do GLUT4 pelo NF-kB.

**Métodos e Resultados:**



Os músculos sóleos de ratos Wistar foram avaliados no estado alimentado e após 48 horas de jejum submetidos ou não à incubação por 70 minutos em solução Krebs-Henseleit Buffer (KHB), KHB e 2mU/ml de insulina regular suplementada ou não com glicose (8mM). Pela análise de ligação de proteínas nucleares ao sítio de ligação do NF-κB em DNA, por meio de EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay) ou gel-shift, revelou-se a presença de duas bandas ("a" e "b") que foram diferentemente moduladas, indicando a participação de dois complexos diferentes de proteínas nucleares. O jejum aumentou ( $p < 0.05$ ) o total de ligação (banda "a" + banda "b") no sítio de ligação do NF-κB, consequência do aumento de 3,5x ( $p < 0.05$ ) da ligação da banda "b", sem mudança na banda "a". A incubação dos músculos de ratos jejuados em solução não suplementada reverteu as modificações induzidas pelo jejum. A incubação dos músculos com insulina e insulina + glicose reduziram em 50% ( $p < 0.05$ ) o total de ligação no sítio de NF-κB sendo nesse caso consequência da redução da banda "a" somente ( $p < 0.01$ ).

**Conclusões:**

Os resultados mostram alteração da atividade de ligação do NF-κB ao DNA tanto pelo jejum como pela estimulação da insulina (in vitro) confirmando a participação desse fator transcricional na regulação da expressão do gene GLUT4 nessas condições.

29.046

HYPOCORTISOLISM IN PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS AND CHRONIC PELVIC PAIN<sup>1</sup>  
Petrelluzzi, K. F. S.;<sup>1</sup> Garcia, M. C. \*\*;<sup>2</sup> Marques, A.;<sup>2</sup> Lorençato, C. \*\*;<sup>2</sup> Navarro, M. J.;<sup>2</sup> Petta, C.A.;<sup>1</sup> Grassi-Kassisse, M.;<sup>8</sup> Spadari Bratfisch, R. C.;<sup>1</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP;<sup>2</sup> Faculdade de Ciências Médicas UNICAMP

**Objetivo:**

To evaluate the salivary cortisol level in women with surgical diagnosis of endometriosis and suffering from chronic pelvic pain (EDM) and to compare with healthy women (HW). To determine whether differences in the intensity of the subjective sensation of pain is related to the salivary cortisol level.

**Métodos e Resultados:**

91 EDM women ( $34.6 \pm 0.67$  year-old) recruited from the "CAISM Endometriosis Ambulatory" were compared to 81 matched healthy controls recruited at the IB and CAISM ( $30,9 \pm 0,93$  year-old). The salivary cortisol concentration (SCC;  $\mu\text{g/dl}$ ) was assayed by EIA in saliva samples collected at 8:00 am, 4:00 pm and 8:00 pm in a routine day. The pain level was assessed daily, during one week, by the Visual Analog Scale (VAS).

The means ( $\pm$  SEM) SCC in HW at 8:00 am, 4:00 pm and 8:00 pm were  $0.73 \pm 0.05$ ;  $0.33 \pm 0.02$  and  $0.21 \pm 0,02$ , respectively, and  $0.53 \pm 0.03$ ;  $0.24 \pm 0.02$  and  $0.13 \pm 0.01$  for the EDM women ( $p < 0.05$ ; unpaired t test), characterizing hypocortisolism in the EDM patients. Moreover, 20% ( $n=81$ ) of HW and 21% ( $n= 91$ ) of END women presented planed cortisol rhythm. The mean score SCC in patients with mild pain (VAS= $1.4 \pm 0.15$ ;  $n=40$ ) was  $0.57 \pm 0.05$  (8h);  $0.23 \pm 0.03$  (16h) and  $0.15 \pm 0.02$ ; with moderate pain (VAS= $4.5 \pm 0.17$ ;  $n=34$ ) was  $0.49 \pm 0.06$  (8h);  $0.29 \pm 0.05$  (16h) and  $0.14 \pm 0.02$  (20h) and with high pain (VAS= $8.1 \pm 0.2$ ;  $n=17$ ) was  $0.52 \pm 0.07$  (8h);  $0.24 \pm 0.03$  (16h) and  $0.10 \pm 0.02$  (20h). No significant difference in the SCC was found between theses groups.

**Conclusões:**

EDM is associated to hypocortisolism. There was no significant correlation among the chronic pelvic pain intensity and salivary cortisol levels.

29.047

EXPRESSÃO DO AR EM TEMPO REAL E AVALIAÇÃO DA PROLIFERAÇÃO DE CÉLULAS PROSTÁTICAS HUMANAS (HNTEP).<sup>1</sup> Pozzobon, A.;<sup>2</sup> Vieira, J \*;<sup>3</sup> Pianta, D \*;<sup>4</sup> Sprintzer, P. M.;<sup>5</sup> Brum, I. S.;<sup>1</sup> Fisiologia, UFRGS;<sup>2,3,4,5</sup> Fisiologia, UFRGS

**Objetivo:**

Verificar a proliferação celular e avaliar quantitativamente a expressão do gene do receptor de androgênios (AR) nas células epiteliais prostáticas humanas não transformadas (HNTEP) tratadas com androgênio.

**Métodos e Resultados:**

O tecido prostático foi obtido de 10 pacientes com hiperplasia benigna de próstata. O material foi coletado numa condição de pré-descarte, com aprovação do Comitê de Ética da UFRGS. As células epiteliais foram cultivadas em meio 199 com 5% de soro bovino fetal, desteroideado, como condição controle (C5%) ou tratadas com dihidrotestosterona (DHT) nas concentrações de  $10^{-13}$ ,  $10^{-10}$  e  $10^{-8}$  M isoladas ou associadas ao antiandrogênio Hidroxiflutamida (Flu  $10^{-6}$ M). A proliferação foi avaliada no 6º dia pela técnica do MTT. O grupo que recebeu DHT  $10^{-13}$  ( $0,123 \pm 0,063$ ), foi significativamente diferente dos grupos C5% ( $0,083 \pm 0,029$ ), Flu ( $0,082 \pm 0,032$ ),  $10^{-8}$  ( $0,076 \pm 0,020$ ) e  $10^{-13}$ +Flu ( $0,066 \pm 0,018$ ). O RNA total destas células foi extraído com TRIZOL após 4 horas de tratamento e a expressão do AR foi avaliada por PCR em tempo real. Os dados foram expressos como a Mediana(mínimo–máximo) em ng de cDNA da expressão relativa do AR e  $\beta_2$ -microglobulina. Não foram observadas diferenças entre os grupos analisados. Tempo "0"  $0,027(0,007-0,260)$ , C5%  $0,007(0,005-0,027)$ , Flu  $0,010(0,001-0,021)$ , DHT. $10^{-8}$   $0,027(0,004-0,116)$ ,  $10^{-10}$   $0,137(0,004-0,170)$ ,  $10^{-13}$   $0,014(0,006-1,200)$ ,  $10^{-8}$ +Flu  $0,007(0,003-0,600)$ ,  $10^{-10}$ +Flu  $0,026(0,008-0,045)$  e  $10^{-13}$ +Flu  $0,010(0,006-0,333)$ .

**Conclusões:**

A proliferação das células HNTEP foi estimulada pelo androgênio por uma via dependente do AR, pois, o tratamento com Flutamida suprimiu este efeito. As diferentes condições hormonais estudadas não parecem alterar a transcrição do mRNA do AR quando avaliadas por PCR em tempo real. Estudos posteriores estão sendo feitos para avaliar o possível envolvimento de outros fatores na regulação da proliferação das células HNTEP.

**Apoio:** CNPq, PROPESQ- UFRGS

29.048

EXPRESSION DO PROTOONCOGENE C-MYC EM MIOMÉTRIO E MIOMA HUMANOS. <sup>1</sup> Ferrari, A. L.; <sup>2</sup> Miragem, A. A. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Reche, M. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Kohek, M. B.; <sup>5</sup> Brum, I. S.; <sup>6</sup> Corleta, H. v. E.; <sup>7</sup> Capp, E.; <sup>1</sup> Faculdade de Medicina, UFRGS; <sup>2, 3, 5, 7</sup> Fisiologia, UFRGS; <sup>4</sup> Fisiologia, FFFCMPA; <sup>6</sup> Ginecologia e Obstetrícia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

**Objetivo:**

Comparar a expressão do prooncogene *c-myc* em miométrio e mioma humanos.

**Métodos e Resultados:**

Pacientes: 10 mulheres (Serviço de Ginecologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre). Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Tecido: mioma (grupo 1) e miométrio humano normal (grupo 2) foram coletados de pacientes submetidas a histerectomia, congelados em nitrogênio líquido e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o processamento. O RNA total dos tecidos foi extraído com o reagente trizol (protocolo do fabricante Life Technologies). A síntese do cDNA foi realizada a partir do RNA total, utilizando primers desenhados para hibridizar na cauda poli-A característica do mRNA, produzindo um cDNA mais puro. A expressão do mRNA específico para *c-myc* e betamicroglobulina, utilizada como gene normalizador, foi avaliada pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) a partir de transcrição reversa RT-PCR. As reações de PCR foram feitas utilizando-se programas específicos para cada gene em estudo. Cada um dos genes foi amplificado por 30 ciclos.

Os dados foram expressos como a relação *c-myc*/ $\beta_2$ -microglobulina ( $n=10$ ) e analisados por teste "t" pareado. A expressão do m-RNA de *c-myc* no grupo 1 foi de  $0,76 \pm 0,015$  e no grupo 2 de  $0,80 \pm 0,025$  ( $p=0,16$ ).

**Conclusões:**

Estes resultados sugerem que a expressão gênica do *c-myc* não é significativamente diferente no mioma e miométrio normal.

29.049

OS EFEITOS DA CORTICOTERAPIA SOBRE A FORÇA E A MASSA ÓSSEA EM RATOS. <sup>1</sup> Bergamaschi, C. M. T.; <sup>2</sup> Longo, M. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Quintino, W. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Beutel, A. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> Carillo, B. A. <sup>\*\*</sup>; <sup>6</sup> Campos, R. R.; <sup>7</sup> Lazaretti-Castro, M.; <sup>1</sup> Fisiologia, UNIFESP; <sup>2</sup> Endocrinologia, UNIFESP; <sup>3, 4, 5, 6</sup> Fisiologia Cardiovascular, UNIFESP; <sup>7</sup> Medicina Interna, UNIFESP

**Objetivo:**

O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da corticoterapia na massa óssea de ratos tratados com metilprednisolona.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar (280g, n=10) divididos em dois grupos: controle (GC) e grupo tratado com metilprednisolona (solu-medrol) (GM) 3,5mg/kg/dia cinco vezes por semana durante nove semanas. Antes e após o tratamento realizou-se densitometria óssea (DXA) destes animais e ao término do tratamento, os animais foram novamente anestesiados (Ketamina-Xilazina; 40mg/kg-20mg/kg) para coleta do sangue e análise dos seguintes parâmetros: osteocalcina e cálcio ionizável. As tíbias foram retiradas para a análise de força (Fmax), do conteúdo ósseo, mineral e orgânico. Os resultados seguem abaixo:

	GM	GC
Fmáx (N)	71 ± 11	83 ± 11
DXA	1,6 ± 0,07	1,7 ± 0,1

A Densidade Mineral Óssea foi maior no GC(p<0,0052) .

**Conclusão:**

Os resultados sugerem que a corticoterapia realizada com metilprednisolona produziu no grupo tratado com Solu-medrol, além da esperada redução na densidade mineral do osso, uma tendência à fragilidade óssea maior que no grupo controle. Isto poderia sugerir uma redução na qualidade óssea , aumentando a probabilidade de fraturas.

29.050

EFFECTS OF CYTOKINES ON SIGNALING PATHWAYS LEADING TO APOPTOSIS IN INSULIN-PRODUCING CELLS <sup>1</sup> Souza , K. L.; <sup>2</sup> Gurgul, E.; <sup>3</sup> Elsner, M.; <sup>4</sup> Lenzen, S.; <sup>1, 2, 3, 4</sup> Institute für Klinische Biochemie, Medizinische Hochschule Hannover

**Objetivo:**

The complex signalling pathways of proinflammatory cytokines may lead to an upregulation of critical genes and to the activation of caspase-3, which mediate cell death or survival. We have therefore evaluated the expression of iNOS and MnSOD genes in insulin-producing RINm5F cells exposed to selected cytokines and the correlation of these results with caspase-3 and the nitric oxide (NO) pathway.

**Métodos e Resultados:**

Real time PCR analysis showed that IL-1b and a combination of all three pro-inflammatory cytokines (IL-1b, TNF-a, IFN-g) strongly increased while TNF-a alone only relatively increased iNOS and MnSOD gene expression. A combination of TNF-a and IL-1b resulted in a slight synergistic effect on MnSOD expression compared to incubation with IL-1b alone. IL-4 and IL-10 strongly decreased IL-1b-induced iNOS expression whilst IL-10 synergistically increased IL-1b-induced MnSOD expression. Caspase-3 activity was increased by IL-1b, and the combination of all three cytokines, as measured by the DEVD cleavage method. TNF-a slightly decrease/increase caspase-3 activity in a time-dependent manner. IL-10 and particularly IL-4 were able to decrease caspase-3 activity induced by IL-1b or by the combination of all three cytokines. Although IFN-g could induce a synergistic effect in combination with IL-1b and TNF-a, IFN-g alone did not significantly change iNOS or MnSOD expression and had no effect on caspase-3 activity. Use of an iNOS blocker decreased cell viability and was not able to abolish caspase-3 activity induced by IL-1b or the combination of pro-inflammatory cytokines.

**Conclusões:**

TNF-a and particularly IL-1b proved to be the most potent inducers for iNOS and MnSOD gene expression and for caspase-3 enzyme activity. Cytokine-induced caspase-3 activation seems to be NO-independent and IL-10 and IL-4 may protect cells against pro-apoptotic pathways.

29.051

EFEITO DO JEJUM NO DESENCADEAMENTO DE APOPTOSE EM LINFÓCITOS DE RATOS <sup>1</sup> Pires, J <sup>1</sup>; <sup>2</sup> Curi , R.; <sup>3</sup> Otton, R.; <sup>1, 2</sup> Fisiologia ICB, USP; <sup>3</sup> Fisiologia CCBS, UNICSUL

**Objetivo:**

Este trabalho tem por objetivo avaliar se ratos submetidos ao jejum de 48 horas apresentam maior número de linfócitos em apoptose. Isto se justifica devido ao fato de que no jejum há um aumento de ácidos graxos livres no plasma e estes são potentes indutores de apoptose

**Métodos e Resultados:**

Ratos machos adultos (200-240 g) foram submetidos a um período de 48 horas de jejum. Os linfócitos foram obtidos a partir dos linfonodos mesentéricos e avaliados imediatamente após a obtenção ou após cultura de 48h em meio RPMI 1640. Após este período os seguintes parâmetros foram analisados: dosagens plasmáticas de glicose,  $\beta$ -hidroxibutirato ( $\beta$ -HBA) e acetoacetato; viabilidade celular; análise de fragmentação de DNA; análise de despolarização mitocondrial; externalização de fosfatidilserina; coloração pela marcação de lipídio neutro " Nile- red" e ativação de caspase-3.

Houve aumento significativo na concentração de  $\beta$ -HBA no plasma de ratos em jejum (4,28 mmol/L) em relação ao grupo controle (0,21 mmol/L). O acetoacetato, não foi diferente entre os grupos. A concentração plasmática de glicose foi menor no grupo em jejum (79 mg/dL) quando comparado ao grupo controle (190 mg/dl). A viabilidade dos linfócitos não foi diferente entre os grupos após 48h de cultura. A fragmentação do DNA aumentou nos linfócitos do grupo jejuado em 34% em relação ao controle após 48 horas de cultura. Na coloração com "nile red" não houve diferença significativa entre os linfócitos do grupo controle e o grupo jejum. Os linfócitos de ratos submetidos ao jejum apresentaram um aumento em relação ao grupo controle de 41 e 125 % na externalização de fosfatidilserina nos tempo 0h e 48 hs, respectivamente. O efluxo de rodamina 123 como índice de despolarização mitocondrial, apresentou aumento de 125 % nos linfócitos dos ratos submetidos ao jejum em relação aos linfócitos controle. A ativação de caspase-3 mostrou aumento significativo nos linfócitos de ratos submetidos ao jejum (90%) em relação ao grupo controle.

**Conclusões:**

Podemos concluir que o estado de jejum aumenta a proporção de linfócitos em apoptose conforme indicado pelos parâmetros analisados. Este fato provavelmente relaciona-se com o aumento de ácidos graxos livres no plasma que atuam como disparadores de processo apoptótico.

29.052

INVESTIGATION OF THE HYPOLIPIDEMIC POTENTIAL OF ORAL STEVIOSIDE IN HYPERLIPIDEMIC PATIENTS <sup>1</sup> Galende , S. B.; <sup>2</sup> Silva, G.E.C.; <sup>3</sup> Vier, B.P.; <sup>4</sup> Bazotte , R. B.; <sup>1,2,4</sup> Farmácia e Farmacologia, UEM; <sup>3</sup> Hospital Universitário HU, UEM

**Objetivo:**

The hypolipidemic potential of oral stevioside (2.75 mg/kg/day) obtained from leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert) Bertonii (Compositae) was investigated in hyperlipidemic patients. For this purpose a placebo controlled double blind study were performed. The investigation was previously approved by the human ethics committee of the State University of Maringá (number 021/2002-COPEP).

**Métodos e Resultados:**

The patients were randomized in two groups: the first group (20 patients) received capsules containing placebo and the second group (23 patients) received capsules containing stevioside (50 mg) during 90 days. All capsules were ingested twice daily, i.e., 2 capsules before lunch and 2 capsules before dinner. The initial values of total cholesterol and low density lipoprotein (LDL) for stevioside group were respectively  $240.6 \pm 3.7$  mg/dl and  $157.0 \pm 4.5$  mg/dl. After the selection of the patients and each 30 days body mass index and laboratory tests (alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyltransferase, total cholesterol, high density lipoprotein, LDL, very low density lipoprotein, triglycerides and glucose) were performed. At the end of the treatment (90 days) the values of total cholesterol and LDL for stevioside group were respectively  $215.9 \pm 4.4$  mg/dl and  $131.9 \pm 4.9$  mg/dl. Thus, blood lipids decreased ( $p < 0.05$ ) during the study. However, the placebo group showed similar results. In addition, Stevioside did not show any relevant modification in the remained parameters investigated. Moreover the patients did not report severe adverse effect.

**Conclusões:**

Thus, we can concluded that stevioside was safe but did not affect lipidemia.

29.053

ALPHA1-ADRENOCEPTORS CONTRIBUTION FOR GLUCOSE UPTAKE IN IVGTT ASSAYS. <sup>1</sup> Almeida, J.; <sup>2</sup> Miotto, A. M. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Silva, C. A.; <sup>4</sup> Sousa-Francesconi, E.P.M. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> Egea, M.M. <sup>\*</sup>; <sup>6</sup> Spadari-bratfisch, R. C.; <sup>7</sup> Grassi-Kassisse, M.; <sup>1,2</sup> Fisiologia e Biofísica, UNICAMP; <sup>3</sup> Faculdade de Ciências da Saúde, UNIMEP; <sup>4,5,7</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP; <sup>6</sup> Física e Biofísica IB, UNICAMP

**Objetivo:**

To investigate the glucose uptake induced by alpha1-adrenoceptor during ivGTT test in anaesthetized rats.

**Métodos e Resultados:**

Male Wistar rats, twelve week-old were maintained at  $22 \pm 2^\circ\text{C}$  on a light-dark cycle (lights on at 6:30 a.m). Foot shock stress protocol was described in J Lipid Res. 40(9):1719-27,1999. iv Glucose Tolerance test was performed as described in Can J Physiol Pharmacol. 80(8):783-9, 2002. Plasma glucose concentrations were measured during ivGTT test in control (CO) and stressed (ST) anaesthetized Wistar rats, and control (CP) and stressed (SP) anaesthetized rats pre-treated with prazosin (alpha 1 adrenoceptor antagonist; 0,2 mg/kg, i.p.). Anesthesia was induced with pentobarbitone (60 mg/kg, i.p.) 30 min before the beginning of the ivGTT test. Results are expressed as glycemia (mg/dl) and area under the glucose curve (AUC;g/dl). Groups were compared using ANOVA plus Tukey's test.

Stressed rats showed higher fasting hyperglycemia when compared with CO rats ( $106.6 \pm 6.3$  vs  $76.8 \pm 2.2$  mg/dl,  $n = 6$ ,  $p < 0.05$ ). The pre-treatment with prazosin did not alter these values. The hyperglycemic response to glucose administration was similar in CO and ST anaesthetized rats. The pre-treatment with prazosin induced significantly higher total areas under the curve for glucose both in control and stressed anaesthetized rats (CO:  $19.13 \pm 0.70$ ; ST:  $17.64 \pm 0.93$ ; CP:  $22.23 \pm 0.79$ ; SP:  $22.89 \pm 0.74$  g/dl), without difference between stressed and control rats.

**Conclusões:**

This results suggest that alpha 1 adrenoceptor mediates the effects on glucose uptake in control and stressed anaesthetized rats.

29.054

INVESTIGATION OF THE ANTIHYPERTENSIVE EFFICACY OF ORAL STANDARDIZED STEVIOSIDE IN PATIENTS WITH MILD ESSENTIAL HYPERTENSION <sup>1</sup> Galende, S. B.; <sup>2</sup> Ferri, L.A.F. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Bazotte, R. B.; <sup>1,2,3</sup> Farmácia e Farmacologia, UEM

**Objetivo:**

Investigate the effect of stevioside obtained from leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert) Bertoni on systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressure.

**Métodos e Resultados:**

Eligible patients with untreated mild essential hypertension were submitted to a single blind phase (4 weeks) in which all patients received placebo. The volunteers selected in this phase were submitted to a randomized placebo controlled double blind study. For this purpose they were randomized in two groups: the first group (seven patients) received capsules containing placebo during 24 weeks and the second group (seven patients) received stevioside 3.75 mg/kg/day (7 weeks), 7.5 mg/kg/day (11 weeks) and 15.0 mg/kg/day (6 weeks). The initial values of SBP and DBP for stevioside group were respectively  $139.9 \pm 5.3$  and  $93.8 \pm 3.4$ . All capsules were ingested twice daily, i.e., before lunch and before dinner. After the placebo phase and after each dose of stevioside, body mass index, electrocardiogram and laboratory tests (urinalysis, hematology, hormones, biochemistry) were performed. During the investigation SBP and DBP were measured weekly. At the end of phase 3 the values of SBP and DBP were respectively  $123.2 \pm 4.9$  and  $83.6 \pm 2.4$ . Thus, SBP and DBP decreased ( $p < 0.05$ ) during the study. However, the placebo group showed similar results. In addition, stevioside did not show any modification in all parameters investigated. Moreover the patients did not report severe adverse effect.

**Conclusões:**

Thus, we can conclude that the stevioside until the dose 15.0 mg/kg/day was safe. However, in contrast with previous studies we did not find antihypertensive effect.

29.055

EFEITO EXTRANUCLEAR DO HORMÔNIO TIREOIDEANO SOBRE A TRADUÇÃO DO mRNA do GH: ANÁLISE DO PERFIL POLISSOMAL. Goulart-Silva, F.; Luchessi, A.D.; Castilho, B. A.; Nunes, M. T.; Fisiologia e Biofísica ICB1 USP

**Objetivo:**

O hipotireoidismo induz desorganização do citoesqueleto de actina do somatotrofo, situação em que se observa predominância do GH na periferia da célula. Após 30 min da administração de T3 observa-se nesta célula, reorganização do citoesqueleto e concomitante elevação de GH na região perinuclear, dado indicativo de um efeito do T3 sobre a tradução do mRNA do GH. Foi objetivo deste estudo avaliar se o T3 induz o recrutamento do mRNA do GH pela maquinaria traducional.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar, adultos, foram divididos nos grupos: Controle (falso operado: FO) e tiroidectomizado (Tx). Os animais Tx receberam água contendo 0,03% de metimazol e 0,05% de CaCl<sub>2</sub> por 20 dias. Os animais receberam, então, salina ou T3 (ev) e foram decapitados após 30 min, constituindo os grupos: Controle, Tx+salina e Tx+T3. As hipófises foram removidas e homogeneizadas em tampão específico. Após centrifugação, os ácidos nucléicos foram quantificados no sobrenadante e 18 U/ml das amostras foram aplicadas no topo de um gradiente de sacarose. Seguiu-se a ultracentrifugação e a análise do perfil polissomal. As amostras das diferentes fases do gradiente foram coletadas, após passarem por um detector de UV, e submetidas a avaliação do conteúdo de mRNA do GH por Northern blotting. Observou-se que o mRNA de GH dos animais Controle apresentou-se totalmente distribuído na fração polissomal, o que comprova a alta taxa de síntese do GH. Nos animais Tx+salina a síntese de proteína apresentou-se bastante comprometida; no entanto após 30 min da administração de T3, nos animais Tx, ocorreu elevação do conteúdo de mRNA de GH nas frações que correspondem aos polissomos.

**Conclusões:**

O T3 aumenta a tradução do mRNA do GH em curto espaço de tempo, dado que sugere uma ação não genômica e que corrobora nossas observações anteriores de aumento perinuclear de GH, após rearranjo do citoesqueleto por administração aguda de T3 em animais Tx.

29.056

EFEITO AGUDO DA INSULINA NA REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA DO GLUT4 DURANTE REALIMENTAÇÃO PÓS-JEJUM. <sup>1</sup> Zanquetta, M. M.; <sup>2</sup> Machado, U. F.; <sup>1</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP; <sup>2</sup> Biofísica e Fisiologia ICB1, USP

**Objetivo:**

A imposição de um jejum alimentar mimetiza um estado de resistência insulínica, induzindo alterações metabólicas tecido-específicas e reduzindo a utilização de glicose periférica estimulada pela insulina. A realimentação pós-jejum induz importante aumento da concentração de insulina, que é um potencial fator regulador da expressão gênica do GLUT4 em diferentes estados metabólicos. Investigar a participação aguda da insulina na expressão gênica do GLUT4 durante a realimentação pós-jejum.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar foram divididos em 3 grupos: submetidos a jejum de 48h (J); jejuados por 48h e realimentados livremente (R); jejuados por 48h e infundidos com insulina (I) (20 µU/Kg/min). Os grupos J e R foram avaliados no jejum e com 2, 4 e 8 horas de realimentação. Imediatamente após as 48h de jejum, os animais do grupo I foram canulados na veia jugular externa para infusão com insulina e foram avaliados 60 min depois do início da infusão. O mRNA do GLUT4 foi avaliado em músculo esquelético gastrocnêmio por Northern Blotting. Após as 48h de jejum, os animais perderam 15% do peso corporal ( $P<0,001$ ) e tiveram redução na glicemia e na insulinemia. A realimentação promoveu rápido (30 min) aumento da glicemia (~70%,  $P<0,05$ ) que perdurou até 8 horas, e que se acompanhou de aumento progressivo até 10x da insulinemia ( $P<0,001$ ). A infusão com insulina não alterou a glicemia durante os 60 min, e aumentou a insulinemia (~9x,  $P<0,0001$ ), mimetizando a concentração de insulina obtida com a realimentação. Comparando com animais alimentados, a expressão gênica do GLUT4 não se alterou após as 48h de jejum. A realimentação induziu um aumento do mRNA do GLUT4 de 24% ( $P<0,05$ ), detectado após 2 horas e que persistiu até 8 horas. Os animais infundidos apresentaram uma redução (~26%,  $P<0,02$ ) na expressão gênica do GLUT4 após 60 min de infusão.

**Conclusões:**

Os resultados indicam que agudamente a insulina regula a expressão do gene do GLUT4 e que o aumento induzido pela realimentação não decorre da elevação da insulina.

29.057

CHANGES IN CHOLESTEROL DISTRIBUTION AMONG PLASMA LIPOPROTEINS INDUCED BY TESTOSTERONE TREATMENT. AA, M. <sup>\*</sup>; Casquero, AC. <sup>\*\*</sup>; Teixeira, L. L. S. <sup>\*</sup>; Salerno, A. G. <sup>\*\*</sup>; Patrício, P. R. <sup>\*\*</sup>; Oliveira, H. C. F.; Fisiologia, UNICAMP

**Objetivo:**

In a previous work we demonstrated that treatment with a mixture of testosterone esters (Durateston) increased the cholesteryl ester transfer protein (CETP) and decreased hepatic lipase (HL) activities. In these work, we tested the hypothesis that these changes would affect plasma concentration and removal rate of HDL.

**Métodos e Resultados:**

Mice expressing CETP and partial deficiency of LDL receptor were treated with Durateston (DT) or placebo (PL) during 3 weeks. HDL labeled with <sup>3</sup>H-cholesterol oleoyl ether (CEt) was injected i.v. in DT and PL mice and the tracer was followed in plasma up to 6 hours. Lipids and lipoproteins were measured in the final plasma samples. DT treatment resulted in significant (p<0.005) increases in plasma triglycerides, total and LDL-cholesterol and reduction in HDL-cholesterol levels. Elevation of CETP and reduction in HL activities were confirmed. <sup>3</sup>HCEt-HDL plasma removal was not affected by DT treatment as judged by the area under the radioactivity versus time curve during 6 hours. However, there was a significant reduction in <sup>3</sup>H-HDL and parallel increase in <sup>3</sup>H-LDL confirming increased CE transfer from HDL to LDL and suggesting slower plasma removal rate of LDL.

**Conclusões:**

These data indicated that testosterone supplementation reduces HDL- and increases LDL-cholesterol levels. Kinetic studies suggested that LDL- cholesterol plasma removal rate was slowed down by increased CETP mediated CE acquisition and partial deficiency of tissue LDL receptor.

29.058

HIPERTROFIA, HIPERPLASIA E DEMANDA VASCULAR EM ILHOTAS PANCREÁTICAS DE ANIMAIS DEXAMETASONIZADOS. <sup>1</sup> Rafacho, A.; <sup>2</sup> Giozzet, V. A. G. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> ROMA, L. P. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Santos, C. L.; <sup>5</sup> Taboga, S. R.; <sup>6</sup> Bosqueiro, J. R.; <sup>1</sup> Ciências Biológicas, UNESP Bauru; <sup>2, 4, 6</sup> Ciências Biológicas, UNESP Bauru; <sup>3</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP; <sup>5</sup> Ciências Biológicas, UNESP São José do Rio Preto

**Objetivo:**

Investigar os efeitos do tratamento com dexametasona sobre a morfologia e estereologia das ilhotas pancreáticas, bem como de alguns parâmetros metabólicos como glicemia, insulinemia, glicogênio e gordura hepáticos.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados ratos Wistar tratados durante 5 dias com injeções diárias de dexametasona (1mg/Kg corpóreo, i.p.) e animais controle tratados com solução salina. Após processo histológico de rotina, as lâminas foram coradas com H&E e Tricrômico de Gömori para avaliação da morfologia básica e para análise de estereologia, respectivamente. A glicemia foi determinada por monitor "Accu-Chek" (Roche) e a insulinemia por RIA. As ilhotas dos animais tratados com dexametasona mostraram-se claramente hipertrofiadas e com presença marcante de células em atividade mitótica e apoptótica. Os diferentes tipos celulares das ilhotas pancreáticas não demonstraram diferenças quantitativas entre os dois grupos. No entanto, a demanda vascular (angiogênese) apresentou aumento significativo (32%) no grupo dexametasonizado comparado ao controle (P<0,05). Redução da massa corpórea, hiperglicemia, hiperinsulinemia, bem como aumento dos conteúdos de glicogênio e gordura hepáticos foram observados no grupo tratado com dexametasona.

**Conclusões:**

A dexametasona, na concentração utilizada, altera o metabolismo glicêmico, além de promover hipertrofia, possível hiperplasia celular e aumento na demanda vascular, agindo grandemente como agente injuriador em ilhotas pancreáticas, como sugere a marcante atividade mitótica e padrão apoptótico.

29.059

EFEITOS DA DEXAMETASONA EM RATOS SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO PROTÉICA SOBRE PARÂMETROS METABÓLICOS E EXPRESSÃO DA PKC. <sup>1</sup> Giozzet, V.A.G. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Rafacho, A. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Santos, C. L. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Bosqueiro, J. R.; <sup>1</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP; <sup>2,3,4</sup> Ciências Biológicas, UNESP Bauru

**Objetivo:**

Investigar os efeitos do tratamento com dexametasona em animais submetidos à restrição protéica sobre parâmetros metabólicos e expressão da proteína quinase C (PKC).

**Métodos e Resultados:**

Ratos machos Wistar de 28 dias foram separados em 3 grupos: Normoprotéicos (NP) alimentados com dieta 17%; hipoprotéicos (LP), alimentados com dieta 6% e hipoprotéicos tratados com dexametasona (LPD) ( 1mg/kg corpóreo, i.p. por 5 dias). Grupo de 20 ilhotas, isoladas com colagenase, foram colocadas em câmaras de perfusão com soluções de Krebs 2.8mM e 16.7mM de glicose. O efluente foi coletado a cada 2 min. A insulina secretada foi quantificada por radioimunoensaio. A secreção de insulina estimulada por glicose no grupo LP foi menor que no grupo NP, além de não apresentar o padrão bifásico característico. O grupo LPD demonstrou aumento de secreção de insulina comparado com o grupo LP. A expressão da PKC foi obtida por Western blotting e quantificada por densitometria. O grupo LPD apresentou aumento de 90% da expressão da PKC comparado ao LP. Redução da massa corpórea, hiperglicemia, hiperinsulinemia, bem como aumento dos conteúdos de glicogênio e gordura hepáticos foram observados no grupo LPD comparado ao grupo LP.

**Conclusões:**

A dexametasona causa alterações nos parâmetros metabólicos, aumento na secreção de insulina estimulada por glicose e na expressão da PKC nos animais submetidos à restrição protéica.

29.060

EFEITOS DA DEXAMETASONA SOBRE A SECREÇÃO DE INSULINA ESTIMULADA POR GLICOSE E EXPRESSÃO DE PKC EM ILHOTAS PANCREÁTICAS DE RATOS. <sup>1</sup> Santos, C. L. <sup>\*</sup>; <sup>2</sup> Giozzet, V.A.G. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Rafacho, A. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Bosqueiro, J. R.; <sup>1,4</sup> Ciências Biológicas, UNESP Bauru; <sup>2,3</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP

**Objetivo:**

Avaliar os efeitos do tratamento com dexametasona (dexa) sobre a secreção estática de insulina estimulada por glicose e expressão da proteína quinase C (PKC).

**Métodos e Resultados:**

Ratos machos Wistar foram tratados por 5 dias com dexa na dose de 1mg/Kg de peso corpóreo i.p., uma vez ao dia. O grupo controle foi tratado sob as mesmas condições com solução salina. As ilhotas foram isoladas e pré-incubadas durante 1 hora com solução de glicose 5.6mM e posteriormente incubadas por mais 1 hora com soluções em diferentes concentrações de glicose (2.8, 5.6, 8.3, 11.1, 16.7 e 22.0 mM). A insulina secretada foi quantificada por radioimunoensaio. A expressão da PKC foi obtida por western blotting e quantificada por densitometria. Os ratos tratados com dexa apresentaram aumento significativo da secreção de insulina em todas as concentrações de glicose ( $p < 0,05$ ). O tratamento também promoveu aumento de 86% na expressão de PKC quando comparado com o grupo controle ( $p < 0,05$ ).

**Conclusões:** A dexametasona, na concentração utilizada, provoca aumento da secreção de insulina e da expressão de PKC em ilhotas pancreáticas de ratos.

29.061

EFEITO DE ÁCIDOS GRAXOS SOBRE O ACOPLAMENTO MITOCONDRIAL E A EXPRESSÃO DA UCP-3 EM CÉLULAS MUSCULARES ESQUELÉTICAS <sup>1</sup> Hirabara, S. M.; <sup>2</sup> Lambertucci, R. H. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Silveira, L.R. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Cury-Boaventura, M. F. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> Leandro, C. V. G. <sup>\*\*</sup>; <sup>6</sup> Polimeno, G.C. <sup>\*</sup>; <sup>7</sup> Folador, A. <sup>\*\*</sup>; <sup>8</sup> Mendonça, J. R.; <sup>9</sup> Carvalho, C.R.O.; <sup>10</sup> Curi, R.; <sup>1,3,4</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP; <sup>2</sup> Fisiologia do Exercício, UNIMEP; <sup>5</sup> Nutrição, UFPE; <sup>6,7,9</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP; <sup>8,10</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP

**Objetivo:**



Investigar o efeito agudo de ácidos graxos (AG) sobre o acoplamento mitocondrial e a expressão da proteína desacopladora-3 (UCP-3) em células musculares esqueléticas.

**Métodos e Resultados:**

Músculos sóleos de ratos machos foram isolados e pré-incubados por 30 min em tampão bicarbonato de Krebs-Ringer, contendo 5,6 mM de glicose, com agitação (120 rpm), a 37°C e 95% de O<sub>2</sub>/ 5% CO<sub>2</sub>. Em seguida, os músculos foram transferidos para outros frascos contendo o mesmo tampão, porém acrescido de 0,3 microCi/mL de [U-<sup>14</sup>C]-D-glicose e incubados por uma hora, na ausência ou presença de 10 mU/mL de insulina e/ou 100 microM de diferentes AG: caprílico (CA), láurico (LA), mirístico (MI), palmítico (PA), esteárico (ES), oleico (OL), linoleico (LI) ou eicosapentaenóico (EPA). Cultura de células musculares C2C12 foram tratadas com 100 microM dos ácidos CA, PA ou LI por uma hora e polarização da membrana mitocondrial interna (MMI) mensurada pela técnica da rodamina 123. Efeito do PA sobre o consumo de O<sub>2</sub> e produção de CO<sub>2</sub> em ratos anestesiados foi avaliado por calorimetria direta utilizando o analisador de gases *Oxymax Deluxe System* (Columbus Instruments, Ohio, EUA). Efeito dos ácidos CA e PA sobre a expressão da UCP-3 em músculo sóleo incubado foi determinado por PCR em tempo real. O ácido CA reduziu a descarboxilação de [U-<sup>14</sup>C]-D-glicose na presença de insulina (29%; P<0,001), enquanto os ácidos PA, ES, OL, LI e EP aumentaram este parâmetro na ausência e na presença do hormônio (32%; P<0,05). Os ácidos PA e LI reduziram a polaridade da MMI em células musculares C2C12. O ácido PA também aumentou o consumo de O<sub>2</sub> (8%) e a produção de CO<sub>2</sub> (11%; p<0,05) em ratos anestesiados. Não houve alteração significativa na expressão de UCP-3 em músculo sóleo incubado na presença dos ácidos CA e PA.

**Conclusões:** Estes resultados são indicativos de que os AG de cadeia longa, agudamente, exercem efeito desacoplador nas mitocôndrias de células musculares esqueléticas, sendo que este efeito não está relacionado com alteração na expressão de UCP-3.

29.062

ALTERAÇÕES NA SECREÇÃO DE INSULINA ESTIMULADA POR GLICOSE EM ILHOTAS PANCREÁTICAS DE ANIMAIS OBESOS – MSG. <sup>1</sup> Grassioli, S.; <sup>2</sup> Marçal, A.C. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Rocha, N. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Scomparin, X. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> Puzzi, M.A. <sup>\*</sup>; <sup>6</sup> Mathias, P.C.F.; <sup>1, 2, 3</sup> Biologia Celular e Genética, UEM; <sup>4, 5, 6</sup> Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá

**Objetivo:**

A secreção de insulina na célula β é regulada por sinais gerados pelo metabolismo intracelular da glicose. Alterações na resposta a glicose são características da obesidade. Nosso objetivo foi avaliar a curva dose-resposta á glicose em ilhotas pancreáticas durante a evolução da obesidade – MSG.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar recém nascidos foram tratados com glutamato monossódico (MSG) durante 5 dias (4g/Kg/dia). Animais Controles receberam salina. Aos 30, 60 e 90 dias ilhotas pancreáticas foram isoladas pela técnica da colagenase e incubadas na presença de diferentes concentrações de glicose (3,9 - 28,8mM). A insulina foi dosada por radioimunoensaio. As gorduras retroperitoneal e periepididimal foram retiradas e pesadas nas mesmas idades. Os dados foram processados no Graph-Pad Prism para obtenção da curva e do tratamento estatístico. A curva dose-resposta á glicose apresentou sensibilidade 12% maior apenas nas ilhotas MSG aos 60 dias, em relação aos controles na mesma idade (p<0,05). A resposta-máxima a glicose foi menor nas ilhotas MSG 20% e 30% respectivamente, aos 30 e 60 dias comparados aos controles nas mesmas idades (p<0,05). Todavia, aos 90 dias a resposta-máxima a glicose foi 50% maior nos MSG, em relação aos controles na mesma idade (p<0,05). O envelhecimento não alterou a sensibilidade á glicose no grupo controle. Porém em ilhotas de animais MSG aos 60 dias houve aumento de 16% na sensibilidade, acompanhado de 50% redução na resposta-máxima á glicose, quando comparado aos animais MSG com 30 e 90 dias (p<0,05). Nos animais controles a resposta-máxima diminuiu em média 30% aos 60 e 90 dias, comparados aos animais de 30 dias (p<0,05). As gorduras retroperitoneal e periepididimal foram cerca de 155% e 230% maiores nos animais obesos – MSG quando comparado aos controles em todas as idades (p<0,05).

**Conclusões:**

No desenvolvimento de ratos existe redução da capacidade secretória das ilhotas, porém nos animais obesos o efeito é contrário. Na obesidade – MSG, devido à resistência periférica à insulina, a secreção acentuada do hormônio deve ser necessária para manter a normoglicemia.

29.063

UTILIZAÇÃO DE GLUTAMINA POR NEUTRÓFILOS NO DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL. <sup>1</sup>Alba-Loureiro, T. C.; <sup>2</sup>Hirabara, S. M. \*\*; <sup>3</sup>Mendonça, J. R.; <sup>4</sup>Curi, R.; <sup>5</sup>Curi, T. C. P.; <sup>1,2</sup>Fisiologia e Biofísica ICB1, USP; <sup>3</sup>ICB, Instituto de Ciências Biomédicas; <sup>4</sup>ICB, USP; <sup>5</sup>Programa Pós Graduação, Universidade São Judas Tadeu

**Objetivo:**

Desde a década de 90, estudos têm indicado relação entre o metabolismo da glutamina e a funcionalidade dos neutrófilos. Este aminoácido aumenta a capacidade bactericida *in vitro* de neutrófilos de pacientes queimados e no pós-operatório, interfere no processo de fagocitose *in vitro* de neutrófilos de pacientes no pós-operatório e, provavelmente, desempenhe um papel na habilidade do paciente combater infecções e injúrias pelo controle da função neutrofílica por interferir na produção de citocinas por estas células. Para isso, o metabolismo de glutamina e a capacidade fagocitária foram avaliados no diabetes mellitus experimental.

**Métodos e Resultados:**

Neutrófilos foram obtidos da cavidade peritoneal de ratos controle e diabéticos (estreptozotocina 65 mg/Kg, 2 semanas), 4 h após a injeção de solução de glicogênio de ostra a 1%. Avaliaram-se: a) o número de neutrófilos obtidos da cavidade peritoneal; b) a viabilidade das células por citometria de fluxo; c) atividade máxima de: glutaminase dependente de fosfato; d) a descarboxilação de [U-<sup>14</sup>C]- glutamina e; e) capacidade fagocitária. O número de neutrófilos no lavado peritoneal não se alterou nos grupos estudados: controle (C); diabético (D) e diabético tratado com insulina (DI) (NPH, 2 a 4 UI por dia/2 semanas, s.c.). Não houve na viabilidade celular, diferença entre os grupos. Em relação ao metabolismo, os neutrófilos de ratos D apresentaram redução na atividade da glutaminase e na descarboxilação de [U-<sup>14</sup>C]- glutamina. O mesmo perfil de resposta foi observado na capacidade fagocitária. Os parâmetros alterados normalizaram-se após o tratamento dos animais com insulina.

**Conclusões:**

Os resultados são sugestivos de que o metabolismo de glutamina está envolvido nas alterações funcionais de neutrófilos no estado diabético.

29.064

O TRATAMENTO COM LEPTINA NO PERÍODO NEONATAL ESTÁ ASSOCIADO A UM HIPOTIREOIDISMO NA PROLE AOS 30 DIAS DE IDADE <sup>1</sup>Passos, M. C. F.; <sup>2</sup>Toste, F. P. \*\*; <sup>3</sup>Alves, S. B. \*\*; <sup>4</sup>Dutra, S. C. P. \*\*; <sup>5</sup>Bonomo, I. T. \*\*; <sup>6</sup>VM, C. \*; <sup>7</sup>SOUZA, J. R. \*\*; <sup>8</sup>Lisboa, P. C.; <sup>9</sup>Moura, E. G.; <sup>10</sup>Passos, M. C. F.; <sup>1</sup>Nutrição Aplicada Instituto de Nutrição, UERJ; <sup>2,4,5,6,8,9</sup>Fisiologia Endócrina, UERJ; <sup>3</sup>Fisiologia, UFPE; <sup>7</sup>Produção Animal, UFMT; <sup>10</sup>Nutrição Aplicada Instituto de Nutrição, UERJ

**Objetivo:**

Leptina em adultos estimula a função tireóidea e se encontra aumentada ao final da lactação em animais desnutridos, programando um hipertireoidismo na idade adulta. Sabe-se que o hipertireoidismo neonatal programa um hipotireoidismo na idade adulta. Entretanto, a injeção de leptina no início da lactação programa também um aumento dos hormônios tireóideos (HT), o que poderia ser considerado um efeito paradoxal. Neste estudo analisamos se a função tireóidea aos 30 dias de idade, em animais injetados com leptina nos 10 primeiros dias de vida justificaria a programação do hipertireoidismo no adulto

**Métodos e Resultados:**

Os filhotes, no dia do nascimento, foram separados em dois grupos: Lep –injetados com leptina murina (8µg/100g P.C./dia, sc) durante os 10 primeiros dias da lactação e controle (C) – recebendo salina. O T3 e T4 séricos foram determinadas por radioimunoensaio comercial e a atividade hepática da glicerofosfato desidrogenase mitocondrial (GPDHm) por técnica colorimétrica. O grupo Lep apresentou menores concentrações séricas de T4 (-13%; p<0,05) e T3 (-17,3%; p< 0,002) e menor atividade da GPDHm (-50,4%; p<0,05).

**Conclusões:** Estes dados mostram que a injeção de leptina no início da lactação causa um hipotireoismo na prole aos 30 dias e que este pode ser o responsável pela programação do aumento da concentração sérica de HT na idade adulta

29.065

A EXPRESSÃO DE ISOFORMAS DA PROTEÍNA QUINASE C EM CÉLULAS DA MEDULA SUPRA-RENAL DE RATOS WISTAR APÓS 30 DIAS DE INDUÇÃO DE DIABETES <sup>1</sup> Trevenzoli, I. H. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Melo, A.; <sup>3</sup> Fabrino, L.; <sup>4</sup> Garcia, R. M. G.; <sup>1</sup> Fisiologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro; <sup>2,3</sup> Biologia, UFJF; <sup>4</sup> Biologia, UFJF

**Objetivo:**

A hiperglicemia, principal característica clínica dos indivíduos diabéticos, afeta o funcionamento das células modificando, entre outras coisas, os processos de sinalização intracelular. Já foi demonstrado em diversos modelos que o diabetes afeta a expressão da proteína quinase C (PKC), família de enzimas presente em todos os tipos celulares animais. Em células cromafins da glândula supra-renal, diferentes isoformas de PKC estão envolvidas na regulação da síntese e secreção de catecolaminas. Já foi demonstrado que o diabetes reduz a secreção de catecolaminas pela glândula supra-renal, acentuando o quadro de descontrole glicêmico dos indivíduos doentes devido à participação destes hormônios nos processos de contra-regulação da glicemia. Assim, o objetivo do nosso trabalho foi estudar o efeito do diabetes sobre a expressão das isoformas alfa, épsilon e zeta em células cromafins da glândula supra-renal de ratos após 30 dias de indução da doença.

**Métodos e Resultados:**

Foram usados ratos Wistar, machos, com 60 dias. O diabetes foi induzido pela injeção intravenosa de estreptozotocina na proporção de 50 mg/Kg de animal. O grupo controle recebeu injeção de solução tampão. Após 30 dias da injeção, os animais foram sacrificados e as glândulas supra-renais retiradas. A expressão das isoformas alfa, épsilon e zeta de PKC foi avaliada por método imunohistoquímico. A glicemia foi de  $288,0 \pm 24,2$  mg/dl nos tratados (n=10) e  $83,2 \pm 2,2$  mg/dl nos controle (n=5). A expressão das isoformas alfa e épsilon foi consistentemente reduzida pelo diabetes. A expressão da isoforma zeta, ao contrário, foi aumentada nos indivíduos diabéticos.

**Conclusões:**

Estes resultados corroboram os resultados obtidos previamente em ratos com 15 dias de diabetes e confirmam que uma das causas na secreção de catecolaminas nos indivíduos diabéticos pode ser a modificação dos processos de sinalização intracelular.

29.066

RESISTÊNCIA À OBESIDADE INDUZIDA POR DIETA HIPERLIPÍDICA EM CAMUNDONGOS NOCAUTE PARA O RECEPTOR B1 DE CININAS. <sup>1</sup> Reis, F. C. G.; <sup>2</sup> Mori, M. A. S. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Pesquero, J. L.; <sup>4</sup> Pesquero, J. B.; <sup>5</sup> Araujo, R. C.; <sup>1,3,5</sup> Centro Interdisciplinar de Investigação Bioquímica, UMC; <sup>2,4</sup>, UNIFESP

**Objetivo:**

Avaliar a relação do receptor B1 de cininas e o desenvolvimento corporal dos camundongos nocaute para o receptor B1 de cininas (B1KO) através do ganho de peso e ingestão alimentar, induzidos pela dieta hiperlipídica.

**Métodos e Resultados:**

Durante 8 semanas de tratamento foram utilizados 10 camundongos B1KO e 10 camundongos selvagem (WT). Cinco animais B1KO e cinco animais WT foram alimentados com ração controle (11% de gordura). Os outros animais foram tratados com ração hiperlipídica (45% de gordura). A ingestão alimentar e o ganho de peso foram avaliados semanalmente.

Durante o experimento foi observada menor ingestão alimentar entre os camundongos tratados com ração hiperlipídica, quando comparados com os que ingeriram ração controle. Entretanto não houve diferenças significativas na ingestão entre os B1KO e WT. Dentre os camundongos tratados com ração hiperlipídica, os B1KO ganharam menos peso do que os selvagem. Essa diferença foi estatisticamente significativa desde a primeira semana do tratamento (p<0,01). Esse fato se traduziu por uma maior quantidade de tecido adiposo branco peri-renal e inguinal nos camundongos WT.

**Conclusões:**

Dos camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, os nocaute para o receptor B1 de cininas ganharam menos peso do que os animais WT, apesar da mesma quantidade de ração ingerida. O ganho de peso dos camundongos B1KO tratados com ração hiperlipídica e com ração controle foi similar, indicando resistência à obesidade induzida pela dieta hiperlipídica nesses animais. Estes dados sugerem a ligação do receptor B1 de cininas à regulação de hormônios e gasto energético, provavelmente agindo a nível central.

29.067

O PAPEL INIBITÓRIO DOS RECEPTORES BETA ADRENÉRGICO NA SECREÇÃO DE INSULINA EM RATOS MSG OBESOS – ESTUDOS *IN VITRO* <sup>1</sup> Marçal, A.C.; <sup>2</sup> Grassioli, S. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Rocha, N. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> PUZZI, M.A. <sup>\*</sup>; <sup>5</sup> MATHIAS, P.C.F.; <sup>1,2,3</sup> Biologia Celular e Genética, UEM; <sup>4,5</sup> Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá

**Objetivo:**

A hiperinsulinemia é um dos fatores que contribui para o desenvolvimento e instalação da obesidade. A ativação dos receptores beta-adrenérgicos das células  $\beta$  pancreáticas pode estar envolvido.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar nos 5 primeiros dias de vida receberam glutamato monossódico-MSG (4mg/g/dia), o controle-C recebeu salina. Aos 90 dias eram sacrificados. Ilhotas pancreáticas foram isoladas pelo método da collagenase e incubadas em 5.6 e 16.7mM de glicose em diferentes concentrações de isoproterenol-ISO, agonista  $\beta$  adrenérgico ( $\emptyset$  - 3000 $\mu$ M) na ausência ou presença de 10 $\mu$ M de yimbina-YOB, antagonista  $\alpha_2$  adrenérgico. Também foi testado a ação da epinefrina-EPI na presença de propranolol-PROP, antagonista  $\beta$  adrenérgico, em incubação com 16.7mM de glicose. Os animais MSG aos 90 dias eram obesos, o índice de Lee foi 7.3% maior que os animais C ( $p < 0.05$ ). O ISO na presença ou na ausência de YOB não alterou a secreção de insulina estimulada por 5.6mM de glicose nas ilhotas dos ratos C, porém, no grupo MSG o ISO provocou redução na secreção de maneira dose dependente. A presença de YOB acentuou a inibição nas incubações com ISO (10 $\mu$ M-3000 $\mu$ M) chegando à 80.7% ( $p < 0.05$ ). ISO induziu um efeito dual nas ilhotas de ratos C incubadas com glicose 16.7mM, nas concentrações de 0.3 $\mu$ M-10 $\mu$ M houve potencialização atingindo 176% ( $p < 0.05$ ), em concentrações de 300 $\mu$ M-3000 $\mu$ M provocou inibição, chegando à 83% ( $p < 0.05$ ). No grupo MSG houve apenas inibição em torno de 70% a partir de 30 $\mu$ M ( $p < 0.05$ ). A presença de YOB nas incubações não alterou a secreção de insulina na presença de ISO nas ilhotas de ratos C. No grupo MSG a YOB acentuou a inibição promovida pelo ISO na ordem de 50% ( $p < 0.05$ ). A epinefrina na presença de PROP inibiu 65% da secreção de insulina estimulada por 16.7mM de glicose em ilhotas de ratos C ( $p < 0.05$ ), enquanto que no MSG a inibição foi de 81% ( $p < 0.05$ ).

**Conclusões:** A obesidade induzida por glutamato monossódico altera a atividade dos receptores beta adrenérgicos de células  $\beta$  pancreáticas, promovendo, em sua estimulação, apenas efeito inibitório na secreção de insulina.

29.068

O EFEITO DO DIABETES SOBRE A SECREÇÃO DE CATECOLAMINAS DA GLÂNDULA SUPRARENAL DE RATOS WISTAR <sup>1</sup> Valle, M. M. R. <sup>\*</sup>; <sup>2</sup> Trevenzoli, I. H. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Silva, S. A. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Melo, A.; <sup>5</sup> Pinheiro, L. F. <sup>\*</sup>; <sup>6</sup> Lanini, <sup>\*</sup>; <sup>7</sup> Soares, C. Q. G. <sup>\*</sup>; <sup>8</sup> Garcia, R. M. G.; <sup>1,3,4,5,6,7</sup> Biologia, UFJF; <sup>2</sup> Fisiologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro; <sup>8</sup> Biologia, UFJF

**Objetivo:**

O diabetes mellitus se caracteriza pela deficiência na secreção de insulina e/ou diminuição da sensibilidade dos tecidos a ela e tem como característica clínica principal a hiperglicemia. A hiperglicemia é considerada a principal causa dos problemas decorrentes do diabetes. Desta forma, o controle rigoroso dos níveis glicêmicos é fundamental para evitar e/ou minimizar os efeitos da doença. Um fator limitante é a falha dos mecanismos de contra-regulação glicêmica que afeta os indivíduos doentes. A adrenalina e o glucagon são os principais hormônios contra-reguladores e a sua secreção é reduzida no decorrer do desenvolvimento do diabetes, acentuando o quadro de descontrole glicêmico e dificultando o tratamento. Os mecanismos que determinam a redução na secreção de catecolaminas ainda não são claros, assim o objetivo do nosso trabalho foi estudar o efeito do diabetes sobre a secreção de catecolaminas em ratos.

**Métodos e Resultados:**

Foram usados ratos Wistar, machos, com 60 dias. O diabetes foi induzido pela injeção intravenosa de estreptozotocina na proporção de 50 mg/Kg de animal. O grupo controle recebeu injeção de solução tampão. Após 15 e 30 dias da injeção, os animais foram sacrificados e as glândulas supra-renais retiradas. As medulas supra-renais foram dissecadas e estimuladas com 50  $\mu$ M carbamilcolina (Cch) ou 30 mM de  $K^+$  ou 25 mM de cafeína. A secreção estimulada por Cch foi significativamente reduzida após 15 e 30 dias da doença (redução de 26,67% e 52,28%, respectivamente). A secreção estimulada por altas concentrações de potássio também foi menor nos animais diabéticos em ambos os experimentos, de 15 e 30 dias. Após 15 dias de diabetes a secreção dos ratos doentes foi 37,39% menor do que nos ratos normais, similar à redução observada nos animais doentes por 30 dias: 38,97%. Ao contrário dos experimentos com Cch e  $K^+$ , a secreção estimulada por cafeína não foi afetada pelo diabetes nem aos 15 nem aos 30 dias.

**Conclusões:**

A redução da secreção de catecolaminas nos indivíduos diabéticos pode ser consequência de falhas nos processos de estimulação via receptores e/ou de despolarização da membrana plasmática.

29.069

TRATAMENTO COM LEPTINA EM RATOS NO INÍCIO DA LACTAÇÃO ESTÁ ASSOCIADO COM RESISTÊNCIA A LEPTINA E À INSULINA AOS 30 DIAS DE IDADE <sup>1</sup> Passos, M. C. F.; <sup>2</sup> Toste, F. P. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Fagundes, A. T. S. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Oliveira, E. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> Dutra, S. C. P. <sup>\*\*</sup>; <sup>6</sup> RS, M. <sup>\*</sup>; <sup>7</sup> LM, F. <sup>\*</sup>; <sup>8</sup> Lisboa, P. C.; <sup>9</sup> Moura, E. G.; <sup>10</sup> Passos, M. C. F.; <sup>1</sup> Nutrição Aplicada Instituto de Nutrição, UERJ; <sup>2, 5, 6, 7, 8, 9</sup> Fisiologia Endócrina, UERJ; <sup>3, 4</sup> Fisiologia Endócrina, Universidade do Estado do Rio de Janeiro; <sup>10</sup> Nutrição Aplicada Instituto de Nutrição, UERJ

**Objetivo:**

Demonstramos que a injeção de leptina no início da lactação programa uma resistência ao efeito anorético da leptina e aumento de peso corporal na idade adulta. Porém, não se sabe a partir de que período da vida destes animais estas alterações se iniciam. Neste estudo avaliamos a insulinemia, a glicemia e testamos o efeito anorético da leptina em ratos aos 30 dias de idade tratados com leptina nos 10 primeiros dias de lactação

**Métodos e Resultados:**

Os filhotes, ao nascerem, foram separados em dois grupos: Lep –injetado diariamente com leptina murina (8 $\mu$ g/100g/PC, sc) durante os 10 primeiros dias de vida, e controle (C) - recebendo o mesmo volume de diluente. Metade dos animais de cada grupo experimental recebeu uma injeção i.p de leptina (0,5 mg/kg/P.C.) e a outra metade, injeção do diluente. O efeito anorético da leptina foi estabelecido pela diferença do consumo de ração entre o grupo injetado com leptina e o grupo que recebeu o diluente, em 2, 4, 6 e 24h. A insulina foi determinada por RIA comercial e a glicemia utilizando um glicosímetro. No teste do efeito anorético da leptina, o consumo alimentar foi inibido no grupo controle às 2h (-20,3%;p<0,03), 4h (-21%;p<0,05) e 6h (-17,3%;p<0,03) após leptina. O grupo Lep não respondeu à injeção aguda de leptina em nenhum dos períodos estudados. Tanto a insulina quanto a glicemia foram maiores no grupo Lep (42,5%,p<0,03; 8,7%, p<0,03, respectivamente).

**Conclusões:**

A injeção de leptina no período neonatal induz a uma resistência ao efeito anorético da leptina e uma provável resistência à insulina já aos 30 dias de idade. Assim, estes dados sugerem que a insulina, além da leptina, tem um papel relevante na programação do peso corporal e ambos podem contribuir para o desenvolvimento do diabetes mellitus.

29.070

REDUÇÃO DA ADIPOSIDADE EM CAMUNDONGOS TRANSGÊNICOS QUE SUPER-EXPRESSAM A PROTEÍNA DE TRANSFERÊNCIA DE COLESTERIL-ÉSTER (CETP). <sup>1</sup> TR, S.; <sup>2</sup> Salerno, A. G. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Harada, L. M. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Oliveira, H. C. F.; <sup>1, 2, 4</sup> Fisiologia, UNICAMP; <sup>3</sup> Fisiologia, FMUSP

**Objetivo:**

A CETP promove a troca de triglicérides (TG) das lipoproteínas ricas em TG por colesteril éster das HDL. Neste trabalho testamos a hipótese de que esta redistribuição de TG poderia desviar o fluxo de ácidos graxos do tecido adiposo e resultar em alteração da adiposidade.

### **Métodos e Resultados:**

Camundongos transgênicos fêmeas que expressam a CETP (Tg) foram comparados a controles que não expressam CETP (nTg) quando submetidos a dieta pobre (4%) ou rica (14%) em gordura. Na vigência de dieta pobre em gordura, os CETP Tg apresentaram menor peso corpóreo no desmame e na idade adulta em relação aos nTg. O peso relativo (% peso corpóreo) do tecido adiposo perigonadal estava reduzido nos CETP Tg quando comparados aos nTg da mesma idade:  $0,28 \pm 0,04$  vs.  $0,69 \pm 0,06$ ,  $p < 0,0001$ ). A ingestão alimentar e a absorção de gordura da dieta (gordura ingerida-excretada) foram similares em ambos os grupos. A concentração plasmática de leptina também estava reduzida nos CETP Tg em relação aos nTg:  $0,63 \pm 0,18$  vs.  $1,41 \pm 0,40$ ,  $p < 0,05$ . Quando submetidos a um período de 20 semanas de dieta rica em gordura, as diferenças de peso corpóreo e de tecido adiposo visceral entre CETP Tg e nTg desapareceram, apesar de menor ingestão e absorção de gordura da dieta nos CETP Tg em relação aos nTg. Porém, os depósitos adiposos subcutâneos, medidos por extração lipídica das carcaças, estavam reduzidos nos CETP Tg:  $11,2 \pm 0,6$  vs.  $14,6 \pm 1,5$ ,  $p < 0,05$ , assim como a concentração de leptina:  $12,0 \pm 1,6$  vs.  $23,05 \pm 5,3$ ,  $p < 0,05$ .

### **Conclusões:**

Os animais que expressam CETP apresentaram menor formação de tecido adiposo e menor produção de leptina que os controles. O comportamento alimentar destes animais não corresponde ao padrão esperado resultante da sinalização central da leptina, sugerindo alteração de sensibilidade ou defeito de sinalização da leptina.

29.071

EFEITO DO CLORETO DE SÓDIO NA DIETA SOBRE A METABOLIZAÇÃO DA GLICOSE E A MASSA DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO DE RATOS. Fonseca-Alaniz, M. H.; Brito, L. C. <sup>\*\*</sup>; Andreotti, S.; Takada, J. <sup>\*\*</sup>; Lima, F. B.; Fisiologia e Biofísica USP

### **Objetivo:**

Investigar o impacto de três diferentes dietas quanto ao conteúdo de sal sobre a atividade metabólica e a massa de diferentes depósitos de tecido adiposo branco e sua resposta à insulina.

### **Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar machos, alimentados desde o desmame com três dietas: pobre (LS, 0,06 %), normal (NS, 0,5 %) e rica (HS, 3,12 %) em Na, foram sacrificados após três, seis e nove semanas de tratamento, em jejum de 12 horas. Os coxins adiposos periepididimal (PE), retroperitoneal (RP) e subcutâneo (SC) da região inguinal e lombar foram retirados e pesados. Adipócitos isolados dos depósitos PE e SC foram submetidos a testes biológicos para avaliar a lipogênese a partir da glicose, em condições basais ou estimuladas pela insulina. Após seis semanas de dieta, o grupo HS apresentou maior massa de tecido adiposo PE (HS=  $4,14 \pm 0,22$ ; NS=  $2,64 \pm 0,18$ ; LS=  $2,17 \pm 0,17$  g; n= 8-9;  $p < 0,001$ ), RP (HS=  $3,33 \pm 0,25$ ; NS=  $2,13 \pm 0,24$ ; LS=  $1,89 \pm 0,25$  g; n= 9;  $p < 0,01$ ) e SC (HS=  $5,94 \pm 0,39$ ; NS=  $4,07 \pm 0,32$ ; LS=  $4,05 \pm 0,36$  g; n= 8-9;  $p < 0,01$ ). Neste mesmo período, o volume dos adipócitos PE foi maior em ratos HS (HS=  $236,97 \pm 16,82$ ; NS=  $177,14 \pm 11,82$ ; LS=  $166,70 \pm 7,01$  pL; n= 9;  $p < 0,01$ ). Ao final da sexta semana de tratamento, a incorporação de glicose em lipídeos estimulada pela insulina foi maior no grupo HS tanto em adipócitos SC (HS=  $188,76 \pm 38,56$ ; NS=  $124,93 \pm 10,75$ ; LS=  $77,23 \pm 7,62$  nmol/10<sup>6</sup>céls.; n= 7;  $P < 0,05$  X LS) como em PE (HS=  $325,39 \pm 31,93$ ; NS=  $135,51 \pm 15,74$ ; LS=  $197,25 \pm 21,32$  nmol/10<sup>6</sup>céls.; n= 7-8;  $P < 0,01$ ).

### **Conclusões:**

A sobrecarga salina aumentou a massa dos depósitos adiposos brancos periepididimal, retroperitoneal e subcutâneo, e o volume dos adipócitos isolados do coxim periepididimal. A maior taxa de incorporação de glicose em lipídeos em adipócitos PE e SC pode ser um dos fatores que contribuem para o aumento de massa adiposa nestes animais.

29.072

EXPRESSÃO GÊNICA DE C-FOS NA ENDOMETRIOSE PÉLVICA: MARCADOR LOCAL DE AÇÃO ESTROGÊNICA <sup>1</sup> Morsch, M.; <sup>2</sup> Carneiro, M. M.; <sup>3</sup> Camargos, AF; <sup>4</sup> Reis, F. M.; <sup>5</sup> Spritzer, P. M.; <sup>1</sup> Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>2,3,4</sup>, UFMG; <sup>5</sup> Fisiologia, UFRGS

### **Objetivo:**

A endometriose é uma doença dependente de estrogênios causando dor pélvica e/ou infertilidade e cuja etiopatogenia ainda não está bem estabelecida. O protooncogene *c-fos* é um fator de transcrição precoce, relacionado com a ação de hormônios sexuais. Os objetivos deste trabalho foram determinar a expressão gênica do receptor de estrogênio  $\alpha$  (ER $\alpha$ ), aromatase e do *c-fos* em implantes endometrióticos e endométrios tópicos de mulheres inférteis.

**Métodos e Resultados:**

Estudo aberto, controlado e prospectivo, incluindo 34 pacientes inférteis, submetidas à laparoscopia e divididas em dois grupos: controles (n=19, 33 $\pm$ 0,9 anos) e endometriose (n=15, 32 $\pm$ 1,5 anos). As biópsias de endométrio e do implante endometriótico foram realizadas em fase folicular do ciclo menstrual e as amostras processadas para determinação dos níveis de mRNA por RT-PCR. Foram determinadas medidas antropométricas e dosagens hormonais. Não houve diferença estatística entre os grupos controle e endometriose para IMC (24,0 $\pm$ 0,9 e 22,4 $\pm$ 0,7) ou SHBG (47,6 $\pm$ 5,5 e 42,8 $\pm$ 4,2 nmol/L) sugerindo níveis estrogênicos similares em ambos os grupos. A expressão gênica do ER $\alpha$  foi maior no tecido endometriótico em relação aos endométrios tópicos ou controles (0,65 $\pm$ 0,14; 0,69 $\pm$ 0,19; 0,07 $\pm$ 0,07; p=0,003). Apenas os endométrios ectópicos expressaram aromatase. A expressão de *c-fos* foi maior nos implantes endometrióticos (1,32 $\pm$ 0,13) do que nos endométrios tópicos (0,97 $\pm$ 0,11) ou controle (0,91 $\pm$ 0,06; p = 0,011).

**Conclusões:**

Os dados do presente estudo, sugerem que o *c-fos* possa estar envolvido com os mecanismos moleculares de ação estrogênica na indução, promoção ou progressão da endometriose. Estudos futuros poderão demonstrar se o *c-fos* pode ser um marcador da eficácia do tratamento supressivo da endometriose.

29.073

TEOR DE SÓDIO DA DIETA MODULA TRANSCRICIONALMENTE A EXPRESSÃO GÊNICA DO SGLT1 EM INTESTINO DELGADO SEM ALTERAR ABSORÇÃO INTESTINAL DE GLICOSE. Okamoto , M. M.; Zampieri, R.A.; Souza , K. P.; Analiz, M.H.F.; Nunes , M. T.; Machado, U. F.; Biofísica e Fisiologia ICB1 USP

**Objetivo:**

A absorção intestinal de glicose é um processo sódio dependente, que envolve o cotransportador sódio-glicose SGLT1. Investigar o efeito do teor de sódio da dieta sobre: a) expressão gênica do SGLT1 no jejuno (proximal - JP e distal - JD); b) estabilidade do mRNA ; c) absorção intestinal de glicose

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar machos tratados durante 9 semanas a partir do desmame com dietas normossódica (NS-0,5% Na<sup>+</sup>), hipossódica (LS – 0,06% Na<sup>+</sup>) e hipersódica (HS – 3,12% Na<sup>+</sup>) foram estudados sob anestesia (Hypnol 50mg/Kg p.c.). O conteúdo mRNA de SGLT1 (Northern blotting) em HS diminuiu (P<0,05, ~45%) em JP e em LS aumentou (P<0,05, ~26%) em JD. Não houve diferença entre os conteúdos da proteína (Western blotting). Amostras de jejuno foram incubadas em meio de cultura DMEM contendo ou não inibidor de transcrição actinomicina D (Act D, 5ug/ml). Relacionando-se os conteúdos de mRNA (normalizados por  $\beta$ -actina total) com os tempos de incubação (0,1,2,3 e 4horas), analisamos o decaimento do mRNA. Essa análise demonstrou em amostras não tratadas com Act D: a) em JP aumento em HS (P<0,05,~40% vs NS e LS) e diminuição em LS (P<0,05, ~31% vs NS e HS) ; b) em JD diminuição em LS (P<0,05,~37% vs NS e HS). Em amostras tratadas com Act D não houve diferença entre os grupos. Em grupos adicionais de ratos previamente anestesiados, realizamos perfusão *in vivo* no jejuno com tampão Krebs-Ringer (com 5,6 mM de D-glicose, 37°C) em sistema fechado por 30 minutos, para avaliação decaimento/absorção de glicose os quais foram semelhantes nos grupos estudados.

**Conclusões:**

A análise de decaimento de mRNA de SGLT1 demonstrou que o teor de sódio da dieta induziu em HS aumento (JP e JD) e em LS diminuição (JD) refletindo menor e maior estabilidade do mRNA respectivamente. Tais modulações transcricionais regionais não se refletiram na absorção intestinal de glicose.

29.074

EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE NA ATIVIDADE DA ENZIMA NTPDase. <sup>1</sup> Battisti, V.; <sup>2</sup> Lunkes, G. I. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Habdalla, F.H. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Lunkes, S. <sup>\*</sup>; <sup>5</sup> Pereira, M. E.; <sup>6</sup> Schetinger, M. R.; <sup>7</sup> Morsch, V. M.; <sup>1</sup> Bioquímica CCS, UFSM; <sup>2,3,4</sup> Ciências da Saúde, UNICRUZ; <sup>5,6,7</sup> Química, UFSM

**Objetivo:**

Avaliar os efeitos de diversas concentrações de glicose na atividade da enzima NTPDase com diferentes tempos de pré-incubação.

**Métodos e Resultados:**

A atividade enzimática foi determinada em plaquetas de pacientes normais (n=10), com idade entre 19 e 59 anos. A atividade da enzima NTPDase (Platelets 7:225, 1996) foi expressa em nmol Pi/min/mg de proteína. A Permissão de Consentimento foi autorizada pelo CEP/UFSM, protocolo nº 013/2004. Os dados obtidos estão expostos na tabela abaixo.

**Conclusões:**

As concentrações crescentes de 5, 35, 70 e 100 mM de glicose determinaram um aumento da atividade da enzima NTPDase. Os tempos de pré-incubação não interferiram na atividade da enzima. Dessa forma, pode se observar que a hiperglicemia interfere na atividade da ectonucleotidase e contribui com os processos trombogênicos.

29.075

A INIBIÇÃO DA LACTAÇÃO COM BROMOCRIPTINA ALTERA O METABOLISMO GLICIDICO E A COMPOSIÇÃO CORPORAL NA PROLE ADULTA <sup>1</sup> Bonomo, I. T. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Lisboa, P. C.; <sup>3</sup> Toste, F. P. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Trevenzoli, I. H. <sup>\*</sup>; <sup>5</sup> LP, C.; <sup>6</sup> Pereira, A. R. <sup>\*</sup>; <sup>7</sup> Dias, A. G. <sup>\*</sup>; <sup>8</sup> Passos, M. C. F.; <sup>9</sup> Moura, E. G.; <sup>1,2,3,4,5,6</sup> Ciências Fisiológicas, UERJ; <sup>7</sup> Ciências Fisiológicas Centro Biomédico, UERJ; <sup>8</sup> Instituto de Nutrição, UERJ; <sup>9</sup> Ciências Fisiológicas, UERJ

**Objetivo:**

A desnutrição na lactação diminui a lactogênese. Sabemos que a restrição calórica, a injeção de leptina e o tratamento com bromocriptina (BRO - inibidor da síntese de prolactina) durante a lactação programam um aumento do peso corporal da prole na idade adulta. Ainda, a prole adulta programada pela BRO exibe uma hipofunção tireoideana secundária, hiperleptinemia e resistência ao efeito anorético da leptina.

Neste trabalho avaliamos a composição corporal, o conteúdo de catecolaminas totais e as concentrações séricas de glicose e insulina na prole adulta de ratas tratadas com BRO na lactação.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos os filhotes de ratas lactantes tratadas com BRO (1mg/2x) ou salina (CON) nos 3 dias finais da lactação. Aos 180 dias de idade, as proles CON e BRO foram sacrificadas e coletamos: sangue (dosagem de glicose e insulina), adrenal (determinação da quantidade de catecolaminas na medula) e a carcaça (conteúdo de gordura, proteína e água).

A prole BRO apresentou maior quantidade de gordura e proteína (+41% e +25%, p<0,05), com redução no teor de água (-4%, p<0,05) corporal total, maior concentração de catecolaminas (+40%, p<0,05), hiperglicemia (+16%, p<0,05), sem alteração de insulinemia.

**Conclusões:**

A inibição da PRL durante a lactação programa uma resistência à insulina, que pode ser causada pelo aumento de catecolaminas e pelo aumento da proporção de gordura corporal. Tais modificações podem contribuir para o desenvolvimento da síndrome metabólica.

29.076

INFLUÊNCIA DO ESTADO TIREOIDEANO SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE LEPTINA INTRA-HIPOFISÁRI Veiga, M. A. L. C.; Pazos-Moura, C. C.; KJ, O.; Curty, F.; IBCCF UFRJ

**Objetivo:**

Estudos mostram um efeito estimulatório da leptina sobre o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide em animais normais em jejum ou alimentados. Já foi descrita a presença de leptina e seus receptores na adeno-hipófise. Demonstramos em animais normais e hipertireoideos que administração aguda de leptina aumenta o TSH sérico, enquanto, in vitro, o efeito direto de leptina na adeno-hipófise dos mesmos modelos animais é inibitório. Em animais hipotireoideos, tanto a ação sistêmica estimulatória, como a ação local inibitória da leptina e o bloqueio desta ação local com o anticorpo anti-leptina, está ausente. Investigamos o efeito do hipotireoidismo sobre a concentração de leptina



intra-hipofisária com o objetivo de correlacioná-la com a diminuição do efeito parácrino/autócrino da leptina sobre a secreção de TSH.

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar foram tratados com metimazol 0,03% na água de beber por 21 dias para obtenção do hipotireoidismo. Imediatamente após a dissecação, as adeno-hipófises foram mantidas a  $-70^{\circ}\text{C}$  até o processamento para a obtenção dos homogenatos (*pool* de 2 adeno-hipófises) para a dosagem da concentração de leptina por radioimunoensaio (RIA) (Linco Research, USA). O TSH sérico dos animais hipotireoideos aumentou 8,6 vezes em relação ao controle [ $C=2,4 \pm 0,18$  ng/mL,  $N=11$ ; Hipo= $21,4 \pm 0,03$  ng/mL,  $N=16$ ;  $p<0,0001$ ], enquanto o T3 sérico dos mesmos animais foram indetectáveis em relação ao controle [ $C=72,6 \pm 3,3$  ng/mL,  $N=7$ ; Hipo= $\text{ND}$ ], ambos foram dosados por RIA. A concentração de leptina nas adeno-hipófises dos animais hipotireoideos mostrou-se diminuída em relação ao grupo controle [ $C=3,2 \pm 0,08$  ng/mL,  $N=8$ ; Hipo= $3,7 \pm 0,17$  ng/mL,  $N=6$ ;  $p=0,017$ ].

**Conclusões:**

Os dados preliminares sugerem que o estado tireoideano altera a concentração de leptina na adeno-hipófise. Em animais hipotireoideos a diminuição da concentração de leptina intra-hipofisária e, portanto, do seu efeito inibitório, pode estar participando dos mecanismos que resultam no aumento da secreção de TSH. Estamos investigando alterações na concentração de leptina intra-hipofisária durante o hipertireoidismo e pretendemos ainda determinar se há alterações na expressão do receptor para leptina (Ob-R) na adeno-hipófise de animais hipo- e hipertireoideos.

29.077

AVALIAÇÃO DO USO DE L-TIROXINA PARA O CONTROLE DO SOBREPESO DURANTE A RESTRIÇÃO ALIMENTAR EM RATOS. Araújo, R. L. <sup>\*\*</sup>; P, M. M. <sup>\*\*</sup>; Rosenthal,; Carvalho, P.; Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho UFRJ

**Objetivo:**

A restrição alimentar conduz à perda de peso corporal, revertendo as alterações metabólicas determinadas pelo excesso de adiposidade. Todavia, durante o processo de emagrecimento, mecanismos homeostáticos operam para resistir a perda de peso. A redução na taxa metabólica basal, determinada em parte, pela redução dos hormônios tireoideanos contribui para essa resistência. Com isso, o objetivo do nosso estudo foi avaliar o uso de L-tiroxina (T4) para o controle do sobrepeso durante a restrição alimentar em ratos. Para tal, avaliou-se peso corporal, gordura retroperitoneal, concentrações séricas de T4, T3 e leptina e a atividade da desidase tipo 1 hepática, uma enzima responsável pela geração do hormônio metabolicamente ativo, o T3.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos ratos Wistar machos que desenvolvem, espontaneamente, sobrepeso com a idade. Os animais foram separados em dois grupos, por idade, sendo classificados como controle (3 meses) e sobrepeso (6 meses). A restrição alimentar (60% da ingestão *ad libitum*) foi eficaz em conduzir à perda de peso e de gordura corporais, porém o T4 (doses de 1,0 e 5,0  $\mu\text{g} / 100$  g p.c.) não foi capaz de potencializar o efeito da restrição durante a perda de peso corporal. Apenas a dose de 5,0  $\mu\text{g}$  de T4 determinou significativa redução de gordura retroperitoneal. A restrição alimentar determinou significativa redução de leptina sérica e a administração de T4, nas duas doses, reduziu ainda mais a concentração sérica de leptina. Durante a restrição, houve significativa redução da atividade da D1 e o T4 exógeno reverteu a atividade desta enzima.

**Conclusões:**

Nossos dados sugerem que a resistência à perda de peso, mesmo após a administração de T4, pode ser determinada pela mudança na metabolização periférica dos hormônios tireoideanos, pois apesar de ter havido aumento da atividade da D1 hepática, não houve aumento significativo do T3 circulante nos grupos em restrição alimentar.

29.078

EFEITO DA TETRAIODOTIRONINA (T4) NO DESENVOLVIMENTO INICIAL DO MATRINXÃ (*BRYCON CEPHALUS*). <sup>1</sup> Hoshiba, M. A.; <sup>2</sup> Camargo, A.C.S. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Urbinati, EC; <sup>1</sup> Morfologia e Fisiologia Animal, Fac. de Ciências Agrárias e Veterinária UNESP; <sup>2, 3</sup> Morfologia e Fisiologia Animal, Fac. de Ciências Agrárias e Veterinária UNESP

**Objetivo:**

Experimentos com hormônios tireoideanos em peixes têm mostrado resultados satisfatórios no crescimento, desenvolvimento, sobrevivência larval, além da aceleração da absorção do saco vitelínico. No presente trabalho foram avaliados os efeitos da tetraiodotironina (T4), aplicada na água de hidratação dos ovos, na taxa de fertilização, eclosão e no crescimento inicial de matrinxã (*Brycon cephalus*).

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizadas 3 fêmeas (2,2±0.3 kg) e 2 machos (1,3 ±0.3 Kg) de matrinxã (*Brycon cephalus*). No momento da extrusão, os ovócitos foram misturados e fertilizados sendo posteriormente divididos em 4 alíquotas que constituíram os seguintes tratamentos: H1 (controle – 0 ppm T4); H2 (0,01ppm T4); H3 (0,05ppm T4) e H4 (0,1ppm T4). Os ovos foram hidratados durante 15 minutos, lavados e transferidos para as incubadoras. Para a observação da taxa de fertilização, eclosão e desenvolvimento embrionário, as amostragens ocorreram 15 minutos, 6, 11,13, 36, 60, 84, 108 e 156 horas após a extrusão. A taxa de fertilização e de eclosão apresentaram valores estatisticamente superiores no tratamento H3 e valores inferiores no tratamento H2 e H4. Em relação ao crescimento, a tetraiodotironina apresentou efeito nas amostragens 15 min. e 11h.. O diâmetro dos ovos foi maior no tratamento H2 e H4 para a amostragem 15 min. e no tratamento H1 para a amostragens de 11horas. Nas amostragens de 36, 60, 84 e 108 horas o tratamento H1 apresentou larvas de comprimento superior em relação aos demais tratamentos, já o tratamento H2 apresentou as menores larvas. O peso só apresentou alteração na amostragem 13 horas, apresentando o tratamento H1 valores superiores em relação ao tratamento H3.

**Conclusões:** A tetraiodotironina aparentemente promoveu efeito negativo em relação ao comprimento das larvas até a amostragem de 108 horas, porém não ocorreram grandes diferenças em relação ao peso das larvas.

29.079

FUNÇÃO TIREOIDEANA EM RATOS TRATADOS COM ESTERÓIDE ANABOLIZANTE Fortunato, R. S. <sup>\*,\*\*</sup>; Chaves , E. A. <sup>\*,\*\*</sup>; P, M. M. <sup>\*,\*\*</sup>; Nascimento , J. H. M.; Rosenthal; Carvalho, P.; Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ

**Objetivo:**

A utilização de esteróides anabólicos por indivíduos que desejam aumentar sua performance física, ou simplesmente para fins estéticos, tem atingido índices alarmantes nas últimas três décadas. A ação desses hormônios sobre a função tireoideana ainda é um assunto controverso e pouco abordado na literatura. Com isso, o objetivo do nosso estudo foi elucidar os efeitos de doses supra-fisiológicas de decanoato de nandrolona (DECA), um dos esteróides anabólicos mais utilizados, sobre a função tireoideana.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos ratos Wistar machos que foram tratados durante 8 semanas com veículo ou DECA (10 mg/ Kg p.c.) via intramuscular, uma vez por semana. Os animais que receberam DECA apresentaram aumento significativo do peso dos rins + adrenal e coração, e diminuição do peso dos testículos. Houve também diminuição, embora não significativa, no peso da gordura retroperitoneal. Em relação à tireóide, a administração de DECA causou aumento significativo do peso absoluto e relativo da glândula, em relação aos animais controle. As concentrações séricas de T<sub>3</sub> total, T<sub>4</sub> livre e TSH diminuíram com o tratamento, mas não houve alteração nos níveis séricos de T<sub>4</sub> total. Nenhuma modificação foi encontrada na atividade da tireoperoxidase e na desidrodase tipo 1 (D1) tireoideana e hipofisária. Porém, no grupo tratado as atividades D1 hepática e renal estavam aumentadas.

**Conclusões:**

O TSH sérico diminuído nos animais tratados com DECA, associado ao aumento do peso tireoideano sugere que o DECA exerça ações proliferativas diretas sobre a tireóide; além disto, demonstramos aumento significativo da D1 hepática e renal, embora o T3 sérico estivesse diminuído. Concluímos que o DECA altera a função tireoideana e a metabolização periférica dos hormônios da tireóide.

29.080

IMPROVEMENT OF NEUROGENIC AND ENDOTHELIAL FUNCTION IN CORPUS CAVERNOSUM FROM SPONTANEOUSLY DIABETIC (DB/DB -/-) MICE BY BAY 41-2272 <sup>1</sup> CE,

T.; <sup>2</sup> Priviero, FBM <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Webb, R. C.; <sup>1</sup> Farmacologia, UNICAMP; <sup>1</sup> ; <sup>2</sup> Farmácia e Farmacologia, UNICAMP; <sup>3</sup> Farmacologia, UFMG

**Objetivo:**

We aimed to examine whether the soluble guanylyl cyclase stimulator BAY 41-2272 is effective against neuronal and endothelial abnormalities in CC from *db/db* *-/-* mice, an animal model of type II diabetes.

**Métodos e Resultados:**

CC from 14 week-old *db/db* *-/-* mice and their littermate controls were mounted in 4-ml myographs and isometric force was recorded. Blood samples were taken in order to determine glucose, triglycerides and total cholesterol concentration. Diabetic mice showed significantly higher body weight compared to their littermates (50±1 vs 28±1 g, respectively; p<0.01). Blood glucose (542±30 vs 114±21 mg/dl), triglycerides (32±4 vs 22±1 mg/dl) and total cholesterol (95±7 vs 60±3 mg/dl) were also significantly elevated in *db/db* *-/-* mice compared to controls (p<0.01). BAY 41-2272 (0.01-10 µM) caused sustained relaxations of CC, with pEC<sub>50</sub> values of 6.53±0.06 and 6.43±0.04 in controls and *db/db* *-/-* mice, respectively. Similar results were obtained with sodium nitroprusside (SNP, 0.01-10 µM). Acetylcholine (ACh, 0.01-1 µM)-induced relaxations were significantly decreased in CC from *db/db* *-/-* mice, at 0.01 (11±2% in controls and 4±1% in *db/db* *-/-* mice; p<0.05), 0.1 (46±2% in controls and 22±3% in *db/db* *-/-* mice; p<0.01) and 1 µM (65±4% in controls and 46±3% in *db/db* *-/-* mice; p<0.05). BAY 41-2272 (0.1 µM) effectively enhanced ACh-induced relaxations to values similar to controls. Relaxant responses to electrical field stimulation (EFS, 1-32 Hz) were significantly decreased in CC from *db/db* *-/-* mice at all frequencies. BAY 41-2272 markedly potentiated both the magnitude and the duration of the EFS-induced relaxations (p<0.01).

**Conclusões:**

BAY 41-2272 markedly improved both endothelial and neuronal functions in cavernosal tissue from type II diabetic mice. These findings could prove suitable for further study in clinical trials of diabetic autonomic neuropathy and vasculopathy.

29.081

ESTUDO DO POLIMORFISMO CAG DO RECEPTOR DE ANDROGÊNIO EM HOMENS COM HIPERPLASIA PROSTÁTICA BENIGNA <sup>1</sup> Biolchi, V.; <sup>2</sup> Silva Neto, B. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Spritzer, P.M.; <sup>4</sup> Koff, W.; <sup>5</sup> Brum, I. S.; <sup>1, 5</sup> Fisiologia, UFRGS; <sup>2, 4</sup> Clínica Médica, Faculdade de Medicina HCPA; <sup>3</sup> Endocrinologia, Faculdade de Medicina HCPA

**Objetivo:**

Analisar a frequência do polimorfismo CAG do AR (Receptor de Androgênios) em uma amostra da população masculina do Rio Grande do Sul com e sem hiperplasia prostática benigna (HPB).

**Métodos e Resultados:**

Os pacientes do grupo controle e com hiperplasia prostática foram oriundos do ambulatório de Urologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. (Aprovado Comitê de Ética nº 04 - 243). O DNA foi extraído de leucócitos de sangue periférico. O polimorfismo CAG do gene do AR foi amplificado através da técnica de PCR. A frequência das repetições CAG foi analisada pelo software Genemapper no seqüenciador ABI - 3100Avant. Os dados são apresentados como média ± EP. Foram analisadas amostras de 49 pacientes do grupo controle e de 22 pacientes do grupo com HPB. O número de repetições CAG do grupo controle variou entre 16 e 31 repetições e do grupo com HPB de 16 a 27 repetições. A média de repetições do grupo controle foi de 21,68 ± 0,56 e do grupo hiperplasia foi de 22,22 ± 0,45 (p=0,484).

**Conclusões:**

Nestes resultados parciais não foram encontrados diferenças significativas no número de repetições do polimorfismo CAG entre o grupo de pacientes controles e o grupo de pacientes com hiperplasia prostática benigna. O trato poliglutamínico (CAG) está localizado no exon 1 do gene do AR e está associado com a atividade deste receptor, podendo estar envolvido no desenvolvimento de patologias androgênio dependentes.

29.082

ATIVAÇÃO DOS RECEPTORES A<sub>1</sub> DE ADENOSINA INDUZ ANALGESIA E REDUZ ANSIEDADE EM RATOS ADULTOS HIPERTENSIVOS <sup>1</sup> Bruno, A. N.; <sup>2</sup> Fontella, F. U. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Bonan, C.; <sup>4</sup> Barreto-Chaves, M. L.; <sup>5</sup> Dalmaz, C.; <sup>6</sup> Sarkis, J. J. F.; <sup>1</sup> Bioquímica ICBS, UFRGS; <sup>2, 5</sup>

Neurociências, UFRGS; <sup>3</sup> Ciências Fisiológicas, PUC-SP; <sup>4</sup> Anatomia ICB III, USP; <sup>6</sup> Bioquímica ICBS, UFRGS

**Objetivo:**

A interação da adenosina com os receptores A<sub>1</sub> está relacionada com a inibição da liberação de neurotransmissores, neuroproteção, redução da ansiedade e analgesia. Estudos recentes realizados em nosso laboratório demonstraram uma inibição da hidrólise de ATP até adenosina em cérebro de ratos submetidos ao modelo do hipertireoidismo. Assim, este estudo investigou os efeitos da administração de um agonista específico de receptor A<sub>1</sub> (N<sup>6</sup>-cyclopentyladenosine; CPA) sobre nocicepção e ansiedade em ratos hipertireoideos.

**Métodos e Resultados:**

Hipertireoidismo foi induzido em ratos machos adultos através de injeções diárias de T4 (ip. 25 µg/100g) durante 14 dias, enquanto que ratos controle receberam solução salina. 24 horas após a última injeção, estes animais receberam uma injeção i.p de 0,5 mg/kg de CPA. Nocicepção foi verificada utilizando o aparato de Tail-flick em animais hipertireoideos e controle, antes e 30, 60 e 120 minutos após a administração de CPA. A ansiedade foi avaliada através dos testes de campo aberto e labirinto em cruz elevado 45 minutos após a administração de CPA. CPA induziu analgesia em ratos controle dos 30 (95%) até 60 minutos após a injeção e reverteu a hiperalgisia observada em ratos hipertireoideos a partir dos 30 minutos (289%), possuindo um efeito analgésico até 120 minutos após a sua administração. Além disso, CPA reduziu em 250% a ansiedade induzida pelo hipertireoidismo pelo teste de campo aberto e 62% no teste de labirinto em cruz elevada.

**Conclusões:**

Estes resultados demonstram o envolvimento dos receptores A<sub>1</sub> de adenosina em parâmetros comportamentais como ansiedade e nocicepção em hipertireoidismo.

29.083

ESTRESSE EM VESTIBULANDOS <sup>1</sup> GARCIA, M. C. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Petrelluzzi, K. F. S.; <sup>3</sup> Rolim, MCC <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Grassi-Kassisse, M.; <sup>5</sup> Spadari-Bratfisch, R. C.; <sup>1,2,3,4,5</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP

**Objetivo:**

Avaliar o índice de estresse em vestibulandos por meio da concentração salivar de cortisol (CSC), do Inventário de Sintomas de Estresse (Lipp, MN. Ed. Ícone, 1987) e das Escalas de Sintomas de Ansiedade (ESA) e Depressão (ESD; Zung, *Arch. Gen. Psychiatry*, 12: 63, 1965; *Psychosomatics*, 12: 371, 1971).

**Métodos e Resultados:**

81 voluntários (18,65±0,18 anos), ambos os sexos, estudantes de curso pré-vestibular forneceram saliva às 8, 12 e 18h, uma vez por mês, de abril a novembro para determinação da CSC (µg/dl). O ISS, a ESA e a ESD foram respondidos em março, junho e nove

Médias (± epm) da CSC foram mais altas em maio, junho e setembro (ANOVA e teste de Tukey) e o número de alunos com ritmo de cortisol alterado aumentou ao longo do ano. A CSC foi mais alta em novembro do que em abril (p<0,05, teste t de Student para amostras pareadas).

	Abril	Maio	Junho	Agosto	Setembro	Outubro	Novembro
8h	0,62 ± 0,05	1,94 ± 0,23*	1,24 ± 0,09*	0,75 ± 0,07	2,64 ± 0,40*	0,80 ± 0,11	0,88 ± 0,10
12h	0,40 ± 0,06	1,04 ± 0,14*	0,47 ± 0,03*	0,30 ± 0,05	1,57 ± 0,34*	0,53 ± 0,05	0,30 ± 0,05
18h	0,19 ± 0,03	0,87 ± 0,16*	0,21 ± 0,03*	0,26 ± 0,06	0,20 ± 0,02*	0,48 ± 0,17	0,16 ± 0,04

Houve correlação inversa entre CSC e o resultado no exame (aprovado X reprovado) (Spearman r = -0,28; IC=-0.48 a -0.06; p< 0,01). As médias (± epm) dos escores obtidos no ISS (34,1 ± 9,3; 34,9

$\pm 9,3$ ;  $35,6 \pm 10,1$ ), ESA ( $50,5 \pm 8,3$ ;  $51,7 \pm 9,2$ ;  $54,2 \pm 10,5$ ) e EDA ( $53,5 \pm 10,1$ ;  $53,2 \pm 9,4$ ;  $56,2 \pm 10,6$ ) foram mais altas em novembro do que em março e junho (ANOVA e teste de Friedman).

**Conclusões:**

No período de inscrições e escolha da carreira (maio e setembro) a CSC está mais alta do que na aproximação dos exames (junho e novembro). A CSC, o ISS, a ESA e a EDA apresentam valores mais altos em novembro do que março/abril. Os altos índices de estresse, aumento da ansiedade e depressão podem prejudicar o desempenho no vestibular e aumentar a susceptibilidade a patologias.

29.084

ISOFLAVONE AND ESTROGEN ON EXPERIMENTAL ATHEROSCLEROSIS IN OOFORECTOMIZED MICE <sup>1</sup> Asakura, L. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Cazita, P. M.; <sup>3</sup> Nunes, V. S.; <sup>4</sup> Harada, L. M.; <sup>5</sup> Berti, J. A.; <sup>6</sup> Salerno, A. G. <sup>\*\*</sup>; <sup>7</sup> Ketelhuth, F. J. <sup>\*\*</sup>; <sup>8</sup> Gidlund, M. A.; <sup>9</sup> Quintao, E. C. R.; <sup>1,3,4</sup> Lípides FMUSP, FMUSP; <sup>2</sup> Lípides FMUSP, HCFMUSP; <sup>5,6</sup> Biologia, UNICAMP; <sup>7,8</sup> Immunology, USP; <sup>9</sup> Lípides FMUSP, USP

**Objetivo:**

Structural similarities between isoflavones and estrogens may influence at the same extent the development of experimental atherosclerosis, an hypothesis that we investigated in female ovariectomized mice partially expressing genes for LDL receptors and cholesteryl ester transfer protein (CETP).

**Métodos e Resultados:**

Mice aged 8wk were oophorectomized and thereafter submitted to a fat/cholesterol rich diet for 19wks eliciting moderate hypercholesterolemia and a lipoprotein profile similar that of humans and separated in 4 groups: subcutaneous pellet graft of 17 $\beta$ -ethinyl-estradiol (EE, 6 $\mu$ g/d, n=29); diet added mixtures of low dose (Iso Low, 27.2 mg/100g, n=25), or high dose of isoflavone mixtures (Iso High, 53.5mg/100g, n=28); and the atherogenic diet alone as a Control group (n=28). At the sacrifice non-HDL-C plasma concentration (mean mg/dL) reached by the EE group ( $84 \pm 8$ ), was lower than the Iso Low group ( $95 \pm 6$ ); EE aortic root lesion area (mean  $\mu\text{m}^2 \times 10^3$ ) ( $22.0 \pm 19.5$ ) was greater than Iso High ( $7.4 \pm 6.4$ ), Iso Low ( $12.3 \pm 9.9$ ) and Control groups ( $10.7 \pm 12.8$ ), whereas the latter did not differ from both isoflavone treated groups. Autoantibodies titers against both the plasma ox-LDL (measured by optical density at 450nm) was higher in EE (0.86) as compared with Controls (0.61), as well as against apoB-D (an oxidized fraction of LDL) that were 0.84 in EE as compared to 0.68 in Iso Low, 0.67 in Iso High, and 0.61 in Controls. Experiments with Control mice as the reference value (100%), *in vitro* mouse peritoneal uptake of donor human 1 $\alpha$ ,2 $\alpha$ , (n)-[<sup>3</sup>H]-cholesteryl oleyl ether acetylated LDL was low in Iso High (68%), which was also lower than in Iso Low (85%). Furthermore, the *in vitro* percent removal by donor human HDL of [4-<sup>14</sup>C]cholesterol from macrophages previously enriched with human [4-<sup>14</sup>C]-cholesteryl oleyl ether acetylated LDL was enhanced in Iso High (150%), that was also greater than in Iso Low (99%).

**Conclusões:**

Therefore, in spite of their antiatherogenic actions regarding the metabolism of cholesterol in macrophages shown *in vitro*, isoflavones failed to prevent against the fat fed induced atherosclerosis. It contrasts with the pro-atherogenic state of 17 $\beta$ -ethinyl-estradiol likely attributed to a pro-oxidant condition *in vivo*.

29.085

PROLACTINA MODULA A EXPRESSÃO E FUNÇÃO DE PROTEÍNAS SNARE, CAMK II E MAP2 EM ILHOTAS DE RATO <sup>1</sup> Cunha, A.; <sup>2</sup> ROMA, L. P. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Boschero, A. C.; <sup>1,2,3</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP

**Objetivo:**

Analisar a expressão de proteínas envolvidas na movimentação e extrusão dos grânulos secretórios em ilhotas pancreáticas cultivadas com PRL por 5 dias e em ilhotas de ratas grávidas. Além disso, estudar a associação e fosforilação destas proteínas em ilhotas estimuladas com PRL agudamente.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizadas ilhotas de ratas Wistar fêmeas de 90 a 120 dias de idade sacrificadas no 15<sup>o</sup> dia de prenhes, e ilhotas de ratos neonatos mantidas em cultura por 5 dias com 0,1 ug/ml de

prolactina. A análise de expressão gênica foi realizada por RT-PCR, e de expressão protéica por Western Blot. Os ensaios de ligação entre proteínas e fosforilação foram feitos por imunoprecipitação seguidos de Western Blot. Em ilhotas de neonatos tratadas com prolactina e em ilhotas de ratas prenhas, kinesina e MAP2 tiveram maior expressão gênica e protéica. Munc-18, componente regulatório na formação do complexo SNARE, bem como STAT3 e 5, fatores de transcrição regulados pela prolactina, não apresentaram diferença de expressão em ambos modelos experimentais. Analisamos, ainda, a formação de complexos entre algumas proteínas responsáveis pela secreção da insulina em ilhotas de neonatos expostas agudamente a prolactina. Foi observada maior interação entre proteínas formadoras do complexo SNARE e de translocação do grânulo de insulina. Observamos, também, diminuição na ligação entre sintaxina 1A e Munc-18. Além disso, SNAP-25 e sintaxina 1A foram fosforiladas em grupamentos serina em ilhotas tratadas com prolactina por 20 min.

**Conclusões:**

Prolactina modula a expressão gênica e protéica de componentes ligados aos passos finais da secreção de insulina. Além de agudamente, promover a mobilização e extrusão dos grânulos.

29.086

CAMUNDONGOS GENETICAMENTE HIPERCOLESTEROLÊMICOS ALIMENTADOS COM DIETA POBRE EM GORDURA SÃO INTOLERANTES À GLICOSE Bonfleur, M. L.; Patrício, P. R. <sup>†</sup>; NS, P.; Boscherio, A. C.; Oliveira, H. C. F.; Fisiologia UNICAMP

**Objetivo:**

A hiperlipidemia de origem dietética prejudica a homeostase glicêmica. No entanto, não se sabe se a hiperlipidemia genética na vigência de dieta pobre em gordura (chow) altera a homeostase glicêmica. Neste trabalho, estudamos a resposta glicêmica à sobrecarga oral de glicose e a resposta secretória de insulina das ilhotas pancreáticas isoladas em camundongos hipercolesterolêmicos geneticamente deficientes do receptor de LDL, homozigotos (R0), heterozigotos (R1) e controles (R2).

**Métodos e Resultados:**

As concentrações de colesterol (COL) e triglicérides (TG) plasmáticos foram determinadas por kits enzimáticos. Camundongos receberam 1,5g/Kg de peso corporal de Glic via oral e amostras de sangue foram coletadas nos tempos 0, 15, 30, 60 e 90 min. A glicemia durante o GTT foi determinada com auxílio de um glicosímetro. As ilhotas foram isoladas pelo método da collagenase e incubadas durante uma hora com 5,6 ou 16,7mM de Glic. A secreção de insulina foi determinada por radioimunoensaio e o resultado foi expresso em pg/ilhota/h. Camundongos R0 apresentaram o fenótipo lipêmico esperado, isto é, COL e TG 4,4 e 2,5 vezes maiores que o grupo R2, respectivamente. O grupo R1 apresentou aumento de 1,7 vezes na concentração de COL em relação ao R2. A área sob a curva glicêmica (GTT) foi maior no grupo R0 quando comparado com os grupos R1 e R2 (824±16; 693±31; 651±15, respectivamente p=0,001 n=10-15). A secreção de insulina, quando as ilhotas foram incubadas com 5,6mM de Glic, foi maior no grupo R0 em relação aos grupos R2 e R1 (420±110; 180±30; 160±40, respectivamente p<0,05 n=06-15). O mesmo resultado foi observado com 16,7mM de Glic (1310±170; 850±90; 460±80 p<0,05 n=06-15).

**Conclusões:**

Camundongos geneticamente hipercolesterolêmicos alimentados com dieta pobre em gordura são intolerantes à glicose e suas ilhotas são mais sensíveis à glicose in vitro.

29.087

EXPRESSÃO DA SUBUNIDADE B DO FSH NO PEIXE REOFÍLICO *SALMINUS HILARII* (TELEOSTEI: CHARACIDAE) DURANTE A OOGÊNESE Melo, R.G. <sup>\*\*</sup>; Araújo, R.C; Ramalho, J.D.S.; Hilsdorf, A.W.S.; Moreira, R.G.; UMC

**Objetivo:**

Investigar a expressão da subunidade  $\beta$  do hormônio FSH (hormônio folículo estimulante) ao longo do ciclo reprodutivo da tabarana, *S. hilarii*, espécie migradora de grande importância na Bacia do Alto Tietê.

**Métodos e Resultados:**

Fêmeas adultas de *S. hilarii* foram capturadas no Rio Tietê ao longo de um ano. As hipófises foram extraídas, congeladas e armazenadas a -80°C. Em seguida foi realizada a extração de RNA total

das hipófises desses animais em diferentes estádios do ciclo gonadal (repouso, maturação, maduro e regressão). Em seguida, realizou-se a Transcriptase Reversa (RT), utilizando 1µg do RNA total de cada amostra e *primers* específicos construídos com base em regiões conservadas do gene da subunidade  $\beta$  do FSH em peixes. Os cDNAs obtidos foram amplificados posteriormente através da técnica de PCR, realizada para a quantificação e medição da expressão. Para tanto, realizou-se a corrida em gel de agarose a 2% de 10 µL do produto de PCR, correspondente aos estádios de maturação. A imagem foi adquirida e a quantificação realizada com o auxílio do LabWorks 4.0 Image Acquisition and Analysis Software. Os resultados mostram que os *primers* utilizados podem ser validados para a espécie em questão. A quantificação de  $\beta$ -FSH nos diferentes estágios de desenvolvimento sugere que a expressão deste hormônio é diferenciada ao longo do ciclo reprodutivo, sendo mais expresso na fase de repouso do ciclo gonadal, e menos expresso nos animais maduros.

**Conclusões:**

A expressão do FSH diminui na fase madura, o que leva a crer que no Characideo em questão o controle endócrino da reprodução seja mediado por 2 gonadotropinas, sendo provavelmente o hormônio luteinizante o responsável pela fase de maturação final e ovulação, como ocorre em alguns teleosteos.

29.088

EXPRESSÃO DO RECEPTOR DE PROGESTERONA B EM FIBROADENOMAS E TECIDO MAMÁRIO NORMAL <sup>1</sup> Branchini, G.; <sup>2</sup> Schneider, L. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Cericatto, R. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Brum, I. S.; <sup>5</sup> Spritzer, P. M.; <sup>1</sup> Fisiologia, UFRGS; <sup>2,4,5</sup> Fisiologia, UFRGS; <sup>3</sup> Ginecologia e Obstetrícia, HC Porto Alegre

**Objetivo:**

O receptor de progesterona humano existe como duas isoformas, A e B ambas sendo expressas nos tecidos alvo em níveis comparáveis. Nosso objetivo neste trabalho foi avaliar a expressão da isoforma B (PRB) do receptor de progesterona em fibroadenomas e tecido mamário humano normal.

**Métodos e Resultados:**

Os tecidos mamário normal e tumoral foram obtidos de 9 pacientes encaminhadas à cirurgia por indicação de seu médico, no Serviço de Mastologia do HCPA (Aprovado pelo Comitê de Ética, processo 00-400). O tecido foi coletado e imediatamente congelado até o processamento. O RNA total dos tecidos foi extraído com o reagente TRIZOL, seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante. O cDNA foi sintetizado a partir do RNA total. As reações de PCR foram feitas utilizando-se oligonucleotídeos específicos para o gene do receptor de progesterona B e  $\beta$ 2-microglobulina (gene normalizador). Os resultados foram quantificados a partir da intensidade das bandas em gel de agarose, utilizando-se o programa ImageMaster. Os dados são apresentados como a média ( $\pm$  DP) da relação PRB/ $\beta$ 2M. A expressão do PRB no tecido normal foi  $0,7489 \pm 0,064$ , e no fibroadenoma foi  $0,7778 \pm 0,0438$  ( $p=0,28$ ).

**Conclusões:**

Os dados preliminares do presente estudo sugerem que a expressão da isoforma B do receptor de progesterona não esteja diretamente envolvida com os mecanismos de formação ou manutenção dos fibroadenomas. A amostra está sendo expandida e estudos complementares estão sendo desenvolvidos para avaliar a influência da fase do ciclo menstrual na expressão de PRB bem como a relação PRB/PRA e o diâmetro do fibroadenoma.

29.089

HOMEOSTASE DA GLICOSE EM CAMUNDONGOS DUPLO NOCAUTE PARA OS RECEPTORES B1 E B2 DE CININAS. <sup>1</sup> Barros, C. C. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> HARO, A. S.; <sup>3</sup> Mori, M.A.S. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Pesquero, J. L.; <sup>5</sup> Bader, M.; <sup>6</sup> Pesquero, J. B.; <sup>7</sup> RC, A.; <sup>1,2,4,7</sup> Centro Interdisciplinar de Investigação Bioquímica, UMC; <sup>3,6</sup>, UNIFESP; <sup>5</sup>, Max-Delbrück Center for Molec.Med.,Berlin,Alemanha

**Objetivo:** Definir o metabolismo da glicose em camundongos geneticamente modificados pela deleção dos genes que codificam para os receptores B1 e B2 de cininas.

**Métodos e Resultados:**

Foram usados dois grupos de camundongos machos da linhagem C57Bl/6. Um grupo controle com animais normais (WT, n = 6), e um grupo de animais duplo nocaute para receptores de cininas

(KO, n = 6). Todos os animais foram submetidos a uma dieta hiperlipídica (45% de gordura) por 9 semanas. No final deste período a dieta foi removida e, após 24 horas de jejum, foram mensuradas as glicemias basais. Imediatamente após cada animal recebeu uma injeção intraperitoneal de glicose na dose de 1mg/g de peso vivo. Novas aferições de glicemia foram realizadas 15, 30, 45, 60 e 90 minutos após a aplicação das injeções. A média dos valores glicêmicos obtidos para cada momento de coleta foram: Grupo KO – 129± 20; 286± 70; 320± 66; 331± 78; 318± 71 e 279± 72 mg/dL e grupo WT – 163± 29; 373± 35; 421± 61; 432± 58; 424± 79; 378± 106 mg/dL.

**Conclusões:**

O grupo de camundongos duplo nocaute para receptores de cininas apresentou valores glicêmicos inferiores aos do grupo WT ( $p < 0,05$ ), após dieta hipercalórica, em todos os momentos aferidos. Estes resultados sugerem um envolvimento do sistema calicreína-cininas na homeostase da glicose.

29.090

AUMENTO DA ATIVIDADE E DA EXPRESSÃO GÊNICA DA PI3K EM ILHOTAS DE RATOS SUPLEMENTADOS COM LEUCINA “*IN VIVO*” APÓS PERÍODO DE RESTRIÇÃO PROTÉICA. <sup>1</sup> Filiputti, E.; <sup>2</sup> CREMER, TS.; <sup>3</sup> Araújo, E. P.; <sup>4</sup> Stoppiglia, L. F.; <sup>5</sup> Boschero, A. C.; <sup>6</sup> Velloso, L. A.; <sup>7</sup> Carneiro, E. M.; <sup>1</sup> Biofísica e Fisiologia, UNICAMP; <sup>2</sup> Fisiologia IB, UNICAMP; <sup>3, 6</sup> Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP; <sup>4</sup> Fisiologia, UNICAMP; <sup>5, 7</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP

**Objetivo:**

Avaliar a atividade da PI3K e também a expressão gênica dessa proteína em ilhotas de animais submetidos a um período de restrição protéica e após suplementação com leucina (L).

**Métodos e Resultados:**

Ilhotas isoladas de ratos controle (NP), de animais desnutridos (LP) e suplementados com 1,5% de (L) (NPL e LPL), foram incubadas em 16,7 mM de glicose (G), 10 mM de L, 40 mM de Potássio (K) bem como em associação ao Ácido Aminoacético 5mM (AOAA). A expressão de mRNA da p70<sup>S6K</sup> e PI3K e protéica da p70<sup>S6K</sup> foi avaliada por RT-PCR e Western Blot, respectivamente, bem como a atividade da PI3K. Estímulo com G16,7 aumentou 2 vezes a secreção de insulina (SI) em ilhotas de NP e NPL em relação as LP e LPL. SI estimulada pela L em associação com AOAA aumentou 1,2 vezes em 2,8G no grupo NP e NPL em relação ao LP e LPL (n = 12,  $p < 0,05$ ) e K aumentou 2 vezes a SI em NP e NPL em relação a LP e LPL (n = 12,  $p < 0,05$ ). A associação de G16,7 e AOAA diminuiu 2,2 vezes a SI em ilhotas NPL com relação as ilhotas NP e 1,2 em ilhotas LPL comparadas com LP (n = 12,  $p < 0,05$ ). Observou-se redução de 1,5 vezes na expressão da p70<sup>S6K</sup> no grupo LP quando comparadas com ilhotas NP e aumento de 1,3 vezes no grupo LPL em relação às ilhotas LP (n = 4,  $p < 0,05$ ). A atividade da PI3K estimulada pela insulina se manteve constante em NP e NPL, no entanto em LPL observou-se aumento de 1,4 vezes em relação ao LP (n = 5,  $p < 0,05$ ).

**Conclusões:**

A inibição de uma das duas vias de metabolização do aminoácido L não alterou o quadro secretório em ilhotas, mas a suplementação promoveu aumento da expressão protéica e gênica bem como da atividade de proteínas fundamentais na cascata de sinalização de insulina e de crescimento celular.

29.091

INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A SECREÇÃO DE INSULINA EM RESPOSTA A GLICOSE EM RATOS OBESOS-MSG. <sup>1</sup> Vanzela, E. C.; <sup>2</sup> Zotti, A. I.; <sup>3</sup> Bonfleur, M. L.; <sup>4</sup> Resh, F. S.; <sup>5</sup> Silva, A. C. M.; <sup>6</sup> Balbo, S. L.; <sup>1</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP; <sup>2, 4, 5</sup> CCBS, UNIOESTE; <sup>3</sup> Fisiologia, UNICAMP; <sup>6</sup> CCBS, UNIOESTE

**Objetivo:**

O tratamento neonatal com glutamato monossódico (MSG) provoca lesões hipotalâmicas em roedores levando à obesidade. Estes animais apresentam hiperinsulinemia de jejum que participa na instalação e manutenção desta síndrome. Um método bastante utilizado na tentativa de prevenção e profilaxia da obesidade é a prática do exercício físico (EF) regular. Nosso objetivo foi avaliar a sensibilidade de ilhotas pancreáticas à glicose em ratos obesos-MSG submetidos ao EF.

**Métodos e Resultados:**



Ratos Wistar machos receberam durante os 5 primeiros dias de vida injeções subcutâneas de MSG (4mg/g de peso corporal) ou salina (grupo controle – CON). Aos 30 dias de vida, iniciou-se o EF, realizado na forma de natação 30 min/dia, 5 dias/semana, com sobrecarga de 5% do peso corporal por todo período experimental, obtendo-se 4 grupos: CON sedentário(sd); CON exercitado(ex); MSG(sd) e MSG(ex). Os animais foram sacrificados por deslocamento cervical aos 90 dias de vida. As ilhotas pancreáticas foram isoladas com colagenase e pré-incubadas por uma hora com 5,6mM de glicose (Glic) e então incubadas por uma hora com 2,8 ou 16,7mM de Glic. A secreção de insulina foi determinada por radioimunoensaio e os resultados foram expressos em ng/ilhota/h. As ilhotas do grupo MSGsd secretam mais insulina em relação ao grupo CONsd ( $6,35 \pm 0,43$ ;  $3,04 \pm 0,31$ ,  $p=0,0001$ ,  $n=13-14$ ) quando estimuladas com 16,7mM de Glic. Este resultado não é observado com 2,8mM de Glic. O EF aumentou a secreção de insulina no grupo CON e MSG na presença de 2,8 mm de glicose (CONsd  $0,36 \pm 0,04$ ; CONex  $0,80 \pm 0,11$   $p<0,001$ ; MSGsd  $0,50 \pm 0,07$ ; MSGex  $0,79 \pm 0,07$ ;  $p<0,05$   $n=11-15$ ). Todavia, a secreção insulina estimulada por 16,7mm de Glic não foi alterada pelo EF em ambos os grupos.

#### **Conclusões:**

Ilhotas pancreáticas isoladas de ratos obesos-msg são mais sensíveis a glicose em relação aos animais magros. As ilhotas dos animais exercitados do grupo CON e MSG são mais responsivas em relação aos sedentários quando incubadas com 2,8mm de glicose, porém o mesmo não é observado na presença de alta concentração de glicose.

29.092

A ADMINISTRAÇÃO CRÔNICA E AGUDA DE LEPTINA EM RATOS REDUZ A CAPTAÇÃO TIREOIDEANA DE RADIOIODETO *IN VITRO*.<sup>1</sup> Fagundes, A. T. S. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Oliveira, E. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Toste, F. P. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Bonomo, I. T. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> Pereira, A. R. <sup>\*</sup>; <sup>6</sup> Moura, E. G.; <sup>7</sup> Passos, M. C. F.; <sup>8</sup> PC, L.; <sup>1, 2</sup> Ciências Fisiológicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro; <sup>3, 4, 5, 6, 8</sup> Ciências Fisiológicas, UERJ; <sup>7</sup> Instituto de Nutrição, UERJ

#### **Objetivo:**

A leptina inibe a ingestão alimentar e estimula o metabolismo, regulando, assim, o peso corporal. Além disso, atua modulando a função tireóidea, por seus efeitos diretos e indiretos sobre o eixo hipotálamo-hipofise-tireóide. Neste estudo avaliamos o efeito do tratamento crônico e agudo *in vivo* com leptina sobre a captação tireoideana *in vitro* de <sup>125</sup>I após 2h (correspondente a atividade do NIS).

#### **Métodos e Resultados:**

Foram realizados 2 experimentos: 1) Tratamento agudo com leptina – LepA: ratos Wistar adultos tratados com dose única de leptina (8ug/100g PC/sc/2 horas) e ConA: controle (salina); 2) Tratamento crônico com leptina – LepC: leptina (8ug/100g PC/sc/6 dias) e ConC: controle (salina). Ao final do tratamento os ratos foram sacrificados e suas tireóides incubadas em meio apropriado (MEM, Sigma). Após 30 minutos foi acrescentada uma dose traçadora de <sup>125</sup>I por 2 horas. Após este período, contamos a radioatividade das glândulas em um compugama, assim como quantificamos as concentrações de HTs no meio de incubação, por RIE. Os grupos LepA e LepC apresentaram menor conteúdo tireoideano de <sup>125</sup>I *in vitro* em 2h (-32% e -29%  $p<0,05$  respectivamente) e maior liberação de T4 para o meio (1,25 vezes e 2 vezes;  $p<0,05$  respectivamente).

#### **Conclusões:**

Estes resultados sugerem que o tratamento *in vivo* com leptina reduz a captação de radioiodeto, embora não possamos descartar um efeito complementar do aumento da saída de radioiodeto pelo aumento da secreção de hormônios tireoideanos recém sintetizados.

29.093

LEPTINA MODULA A ATIVIDADE DESIODASE *IN VIVO* EM ANIMAIS HIPO- E HIPERTIREOIDEOS <sup>1</sup> Cabanelas, A. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Lisboa, P.C.; <sup>3</sup> Bonomo, I. T. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Oliveira, E. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> Fagundes, A. T. S. <sup>\*\*</sup>; <sup>6</sup> Moura, E. G.; <sup>7</sup> Pazos-Moura, C. C.; <sup>1</sup> Biofísica CCS, UFRJ; <sup>2, 3, 4, 5, 6</sup> Ciências Fisiológicas, UERJ; <sup>7</sup> Biofísica CCS, UFRJ

#### **Objetivo:**

A conversão de tiroxina (T<sub>4</sub>) a triiodotironina (T<sub>3</sub>) é um passo importante para a ação dos hormônios tireoideanos. Esta reação é catalisada pelas desidases tipo 1 (D1) e tipo 2 (D2).

Previamente, demonstramos em animais eutireoideos que a leptina estimula, agudamente, a D1 de tireóide, fígado e hipófise, enquanto inibe a D2 em hipófise e tecido adiposo marrom (TAM). Investigamos se a leptina é capaz de modular as desidases em situações de hipo- ou hipertireoidismo.

#### **Métodos e Resultados:**

Ratos hipotireoideos (MMI 0,03% na água de beber, por 21 dias) e hipertireoideos ( $T_4$  10 $\mu$ g/100g p.c., s.c., por 10 dias) receberam dose única de salina ou leptina na concentração de 8 $\mu$ g/100g p.c., sc., 2 horas antes do sacrifício. As atividades D1 e D2 foram dosadas através da liberação de  $^{125}$ I a partir de  $^{125}$ I-rT<sub>3</sub>, utilizando as condições adequadas a cada enzima. A D1 em fígado, tireóide e hipófise deixou de ser modulada pela leptina no hipotireoidismo. O mesmo ocorre no hipertireoidismo, com exceção do fígado, no qual a leptina passa a atuar como inibidor da D1 (Hiper=2,5 $\pm$ 0,83; Hiper+L=1,5 $\pm$ 0,61\* nmol  $^{125}$ I/h.mg ptn, p<0,05). Na hipófise e no TAM persistiu o efeito inibitório da leptina sobre a D2 no hipotireoidismo ( Hipófise: Hipo=540  $\pm$  137; Hipo+L=317  $\pm$  169\*; fmol  $^{125}$ I/h.mg ptn, TAM :Hipo= 594 $\pm$  90; Hipo+L= 251 $\pm$ 102\* fmol  $^{125}$ I/h.mg ptn, p<0,05), enquanto na tireóide a leptina passou a estimular esta atividade (Hipo=1 7  $\pm$  2,3; Hipo+L=22  $\pm$  5,2\*; pmol  $^{125}$ I/h.mg ptn, p<0,05). Já o hipertireoidismo aboliu o efeito inibidor da leptina sobre a D2 de tireóide e hipófise, mas persistiu o efeito no TAM (Hiper=395 $\pm$ 75; Hiper+L=189 $\pm$ 21\* fmol  $^{125}$ I/h.mg ptn, p<0,05).

#### **Conclusões:**

O estado tireoideo modifica a ação da leptina sobre as desidases em diferentes tecidos, mas não no TAM, onde a leptina parece ser um importante inibidor da D2.

29.094

AÇÃO DO HIPOTIREOIDISMO EXPERIMENTAL NA MUCOSA GENGIVAL DE RATOS <sup>1</sup> Douglas, N. G.; <sup>2</sup> Olmedo, P.; <sup>3</sup> Stivaletti, V. L. G.; <sup>4</sup> Bachi, A.; <sup>5</sup> Douglas, C. R.; <sup>6</sup> Leite, C.; <sup>7</sup> Monte, O.; <sup>1</sup> Ciências Biológicas, UESP; <sup>2, 3, 4, 5, 6</sup> Núcleo de Pesquisas Biológicas, UESP; <sup>7</sup> Ciências Fisiológicas, Fac. Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

#### **Objetivo:**

Verificar a ação do hipotireoidismo no conteúdo de proteínas totais, hidroxiprolina e DNA na mucosa gengival.

#### **Métodos e Resultados:**

Foram utilizados 60 ratos da cepa *Sprague-Dawley*, mantidas em condições padrão de biotério, separados em 3 grupos: Tireoidectomizados (GT); Propiltiouracil (PTU) e Controle (C). No grupo GT foi realizada a tireoidectomia cirúrgica total. No grupo PTU foi injetado 10 mg/dia do fármaco em volume de 0,5 ml por via intraperitoneal (ip.). No grupo controle foi injetado solução salina 0,5 ml/dia via ip. Em todos grupos foram retirados 20 mg da gengiva, na qual foram analisados o conteúdo de proteínas totais, hidroxiprolina e DNA (mg/g de tecido). A análise estatística utilizada foi ANOVA, fator único e pós-teste de SNK com p<0,05. Em relação às proteínas totais houve diminuição do grupo GT comparado aos demais grupos (GT= 37,39 $\pm$ 23,43; PTU= 44,23 $\pm$ 25,05 e C= 63,36 $\pm$ 22,05). Em relação a hidroxiprolina e DNA não foram observadas alterações entre os grupos estudados (hidroxiprolina - GT= 2,018 $\pm$ 1,48; PTU= 2,18 $\pm$ 1,48 e C= 2,29 $\pm$ 1,51; DNA - GT= 0,46 $\pm$ 0,31; PTU= 0,33 $\pm$ 0,19 e C= 0,46 $\pm$ 0,41).

**Conclusões:** O hipotireoidismo induzido pela tireoidectomia provoca diminuição das proteínas totais e não produzem alterações nos conteúdos de hidroxiprolina e de DNA na gengiva. O tratamento com o fármaco PTU não apresentam alterações nos parâmetros estudados.

29.095

DIMINUIÇÃO DA SENSIBILIDADE INSULÍNICA E AUMENTO DA EXPRESSÃO DE mRNA DE GLUT4 EM TECIDO ADIPOSE DE RATOS APÓS TRATAMENTO COM INJEÇÕES SUBCUTÂNEAS DE ÓLEO VEGETAL. <sup>1</sup> Eichler, P.; <sup>2</sup> Poletto, A. C.; <sup>3</sup> Machado, U. F.; <sup>1, 2, 3</sup> Biofísica e Fisiologia ICB1, USP

#### **Objetivo:**

Alterações na expressão do GLUT4 são indicadas como causa primária da resistência insulínica, característica de diabetes tipo 2, obesidade e síndrome metabólica. Os ácidos graxos livres desempenham papel fundamental na patogênese do diabetes e podem estar envolvidos nos eventos precoces que levam à resistência insulínica. Avaliar a influência do tratamento crônico de

ratos com injeções subcutâneas de óleos de soja ou de girassol sobre a expressão de mRNA de GLUT4 em músculo esquelético e tecido adiposo branco e sobre a sensibilidade insulínica.

#### **Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar com 2 meses de idade foram tratados por uma semana com injeções subcutâneas diárias de 100µl de salina (controle) ou de óleo de soja ou de óleo de girassol. No oitavo dia os animais foram anestesiados para remoção de músculo esquelético gastrocnêmio e de tecido adiposo periepídimo. Os tecidos foram homogeneizados com Trizol® para a extração de RNA total e o RNA específico de GLUT4 foi analisado pela técnica de Northern Blotting. Em outro grupo de animais foi realizado o teste de tolerância à insulina (ITT). A quantidade relativa de mRNA de GLUT4 em músculo gastrocnêmio não foi diferente entre os 3 grupos de tratamento (n=11). A quantidade de mRNA de GLUT4 em tecido adiposo branco de ratos tratados com óleo de girassol foi 40% maior do que em ratos dos outros tratamentos (n=12,  $P<0,05$ ). Os ratos tratados com óleo de soja e de girassol tiveram uma redução de ~22% na sensibilidade insulínica ( $P<0,05$ ) em relação aos tratados com salina.

#### **Conclusões:**

O tratamento crônico com injeções subcutâneas de óleo de soja ou óleo de girassol em ratos levou ao desenvolvimento de resistência insulínica nestes animais. O aumento da expressão de mRNA de GLUT4 nos ratos tratados com óleo de girassol pode indicar um estado inicial do desenvolvimento da resistência insulínica.

29.096

EFEITO AGUDO E CRÔNICO DA LEPTINA SOBRE A ATIVIDADE DESIODASE EM FÍGADO, MÚSCULO, TECIDO ADIPOSEO MARROM (TAM) DE RATOS EUTIREOIDEOS <sup>1</sup> Oliveira, E. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Fagundes, A. T. S. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> JM, g. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Cabanelas, AP. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> CC, P.; <sup>6</sup> Moura, E. G.; <sup>7</sup> Passos, M. C. F.; <sup>8</sup> PC, L.; <sup>1, 2</sup> Ciências Fisiológicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro; <sup>3, 6, 8</sup> Ciências Fisiológicas, UERJ; <sup>4, 5</sup> Instituto Biofísica Carlos Chagas Filho BL. C, UFRJ; <sup>7</sup> Instituto de Nutrição, UERJ

#### **Objetivo:**

Sabe-se que a leptina estimula o eixo hipotálamo-hipófise-tireóide, porém sobre o metabolismo dos hormônios tireoideanos (HTs) pouco se sabe. Neste estudo, avaliamos a influência deste hormônio sobre atividade desiodase em diferentes tecidos.

#### **Métodos e Resultados:**

Foram realizados 2 experimentos: 1) Tratamento agudo com leptina – LepA: ratos Wistar adultos tratados com dose única de leptina (8ug/100g PC/sc/2 horas) e ConA: controle (salina); 2) Tratamento crônico com leptina – LepC: leptina (8ug/100g PC/sc/6 dias) e ConC: controle (salina). Após o tratamento, foram coletados fígado, TAM e músculo sóleo. A atividade desiodase foi quantificada pela liberação de <sup>125</sup>I a partir de <sup>125</sup>I-rT<sub>3</sub>.

O grupo LepA apresentou aumento na atividade D1 hepática (+85%,  $p<0,05$ ), D1 e D2 muscular (1,3 vezes e +45%  $p<0,05$ , respectivamente) e menor atividade D2 no TAM (-28%,  $p<0,05$ ). O tratamento crônico com leptina aumentou a atividade da D1 hepática (+32%,  $p<0,05$ ), sem alterar a atividade das demais desiodases estudadas.

#### **Conclusões:**

Nossos resultados demonstram que o efeito do tratamento agudo com leptina é tecido-específico e que o efeito estimulatório sobre a D1 hepática é mantido cronicamente, enquanto para os outros tecidos fatores contra-reguladores são acionados pela leptina que bloqueiam seu efeito estimulador agudo. Desta forma, a leptina além de estimular a produção de HTs aumenta sua ação tecidual em fígado e músculo, porém diminui seu efeito em TAM, sugerindo que este efeito agudo possa ter importância fisiológica na regulação do metabolismo pós-prandial nestes tecidos.

29.097

ILHOTAS DE RATOS TRATADOS COM DEXAMETASONA ALTERAM A EXPRESSÃO GÊNICA DE PROTEÍNAS APOPTÓTICAS. <sup>1</sup> ROMA, L. P. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Barbosa, H. C. L.; <sup>3</sup> Cunha, A. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Rezende, L. F. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> Rafacho, A. <sup>\*</sup>; <sup>6</sup> Boscherio, A. C.; <sup>7</sup> Bosqueiro, J. R.; <sup>1, 3</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP; <sup>2</sup> Fisiologia IB, UNICAMP; <sup>4</sup> Instituto Biologia, UNICAMP; <sup>5, 7</sup> Ciências Biológicas, UNESP Bauru; <sup>6</sup> Instituto de Biologia, UNICAMP

#### **Objetivo:**

Os glicocorticóides (GC) e seus análogos produzem uma variedade de efeitos que dependem da concentração e tempo em que são utilizados. Em condições de excesso de GC endógeno ou exógeno, instalam-se quadros de hiperglicemia, resistência à insulina e hiperinsulinemia. Esse fenômeno é resultado da interação de diversos órgãos como pâncreas, fígado e o tecido adiposo. Os GC ligam-se ao seu receptor intracelular específico presente em quase todos os tipos celulares, incluindo as células B pancreáticas. A ligação GC-receptor induz a translocação deste complexo ao núcleo levando à modulação de diversos genes ligados ao metabolismo de lipídeos, proteínas e carboidratos. O objetivo do trabalho foi analisar a modulação da expressão gênica em ilhotas de ratos tratados com dexametasona.

**Métodos e Resultados:**

Foram utilizados ratos machos Wistar (90 dias) tratados durante 5 dias com injeções diárias de dexametasona (1mg/Kg corpóreo, i.p.) e animais controle tratados com solução salina. Na análise da expressão gênica foi utilizada uma membrana de nylon contendo 1176 genes. Para a confirmação dos resultados obtidos no macroarray foi realizado RT-PCR dos genes de interesse. Genes relacionados a apoptose, proteínas de formação do poro da mitocôndria (família Bcl2), receptores de morte (TRAF, TNF) e proteínas ativadas por stress (SAPK) apresentaram aumento significativo (razão tratado/controle > 2,0 vezes). Genes relacionados a proteínas antiapoptóticas como Bcl2 e Bcl tiveram menor expressão em relação ao controle (< 0,5 vezes).

**Conclusões:** O tratamento com dexametasona na dose e tempo utilizado altera a expressão de diversos genes na ilhota, havendo aumento da expressão de genes que favorecem a apoptose e diminuição da expressão de genes relacionados a proteínas antiapoptóticas.

29.098

O HORMÔNIO TIREOIDEANO REPRIME A EXPRESSÃO DE PROTEÍNAS ESTRUTURAIS DO DISCO M NO CORAÇÃO DE RATOS. <sup>1</sup> Kato, P. N.; <sup>2</sup> Soares, A. G.; <sup>3</sup> Perriard, J.C.; <sup>4</sup> Kihara, A. H. \*\*; <sup>5</sup> Hamassaki-Britto, E.; <sup>6</sup> Moriscot, A. S.; <sup>1</sup> Biologia Celular e do Desenvolvimento, USP; <sup>2</sup> Biologia Celular e do Desenvolvimento, USP; <sup>3</sup> Cell Biology, University of Zurich; <sup>4, 5, 6</sup> Biologia Celular, USP

**Objetivo:**

O hormônio tireoideano (T3) exerce uma forte influência na função cardíaca. As bases moleculares para os efeitos deletérios que o T3 provoca no coração são pouco conhecidas, embora desarranjos miofibrilares sugerem que genes estruturais sarcoméricos estejam envolvidos. O presente trabalho investiga os efeitos do T3 na expressão de proteínas estruturais do disco M, proteína M e miomesina, no coração de ratos adultos.

**Métodos e Resultados:**

Hipotireoidismo foi induzido em ratos Wistar (n=5; 250-300g), através da remoção da glândula tireóide. Tratamento (i.p.) de 4 grupos (n=5 a 6) com as seguintes doses de T3: 3.5ng, 17.5ng, 0.17ug, 0.34 ug, por 48h e 0.34ug por uma semana. Subseqüentemente, os ventrículos foram retirados para isolamento de RNA total. O DNAc foi quantificado pelo método de Real Time PCR. Ratos Wistar foram tratados diariamente com 0.34µg/100g pc de T3 por 2, 4 e 8 dias para experimentos de imunodeteção com anticorpo contra miomesina (B4).

A análise em Real Time PCR mostrou que o T3 (1, 5, 50 e 100 doses fisiológicas por 2 dias) diminuiu severamente a expressão gênica da proteína M in vivo em uma maneira dose dependente. Os níveis de RNAm de miomesina, ao contrário, não se alteraram com a ação do T3 mesmo num tempo prolongado de uma semana, enquanto sua expressão protéica diminuiu drasticamente depois de 2, 4 e 8 dias de tratamento com T3.

**Conclusões:**

Concluímos que o T3 reprimiu fortemente a expressão da proteína M num curto período de tempo no coração, enquanto que a regulação negativa da miomesina pelo T3 parece ser induzida pela ativação de vias proteolíticas. O efeito do T3 na expressão da proteína M e da miomesina pode gerar um desarranjo sarcomérico nos cardiomiócitos e, em consequência, afetar o estado fisiológico normal do coração.

29.099

O HORMÔNIO TIREOIDEANO REPRIME A EXPRESSÃO GÊNICA DE PROTEÍNAS ESTRUTURAIS DO DISCO M NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS <sup>1</sup> Kato, P. N.; <sup>2</sup> Conte,

T.C.; <sup>3</sup> Garcia, A.S.; <sup>4</sup> Perriard, J.C.; <sup>5</sup> Kihara, A. H. <sup>\*\*</sup>; <sup>6</sup> Hamassaki-Britto, E.; <sup>7</sup> Moriscot, A. S.; <sup>1</sup> Biologia Celular e do Desenvolvimento, USP; <sup>2, 3, 5, 6, 7</sup> Biologia Celular, USP; <sup>4</sup> Cell Biology, University of Zurich

**Objetivo:**

A administração prolongada e em doses elevadas de T3 promove desarranjos miofibrilares culminando em deficiência funcional do tecido muscular, sugerindo que genes estabilizadores do sarcômero podem ter sua expressão alterada pelo T3. Os genes da miomesina, sua isoforma EH e proteína M são bons candidatos para alvos do T3 na medida que possuem importante papel na manutenção da organização sarcomérica, particularmente do disco M. Assim, o objetivo do presente projeto é investigar o efeito do T3 sobre a expressão gênica destas proteínas no músculo esquelético.

**Métodos e Resultados:**

T3 foi administrado (i.p.) em um grupo de ratos Wistar machos (n=4-6; 250-300g) diariamente em uma dose de 0,34mg/100g pc. Um grupo de 6 ratos não tratados foram usados como controle. Depois de 48h de tratamento, os ratos foram sacrificados por decapitação e, então, o músculo sóleo e o extensor longo dos dedos (EDL) foram rapidamente retirados. O RNA total foi isolado e através da reação da transcriptase reversa obteve-se DNAc. Este DNAc foi amplificado através de RT-PCR. A expressão gênica da proteína M é fortemente reprimida no músculo sóleo pelo T3 (repressão de ~95%) e no EDL obteve-se uma baixa repressão, porém significativa (repressão de ~40%). Por outro lado, a expressão gênica da miomesina não é alterada pelo T3 no músculo sóleo e EDL, enquanto que a expressão gênica de miomesina EH é reprimida no músculo sóleo pelo T3 (repressão de ~68%), porém não no EDL.

**Conclusões:**

O fato da expressão gênica da proteína M e da miomesina EH serem reprimidas preferencialmente no músculo sóleo (músculo com predominância de fibras de contração lenta – tipo I) sugere que o T3 diminui a expressão gênica destas proteínas especificamente em fibras do tipo I.

29.100

AValiação DO SISTEMA SECRETOR DA GLÂNDULA LACRIMAL DE RATOS DIABÉTICOS <sup>1</sup> Cunha, A.; <sup>2</sup> Alves, M. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Boschero, A. C.; <sup>4</sup> Rocha, E. M.; <sup>1,3</sup> Fisiologia e Biofísica IB, UNICAMP; <sup>2</sup> Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP; <sup>4</sup> Oftalmo Otorrinolaringologia, FMRP-USP

**Objetivo:**

Avaliar os elementos moleculares, estruturais e marcadores funcionais relacionados à secreção lacrimal de rato.

**Métodos e Resultados:**

Diabetes mellitus foi induzida por dose única de estreptozotocina (60 mg/Kg) em ratos Wistar de 120 dias de vida. A análise de expressão gênica foi realizada por RT-PCR. A expressão e a localização da sinaptofisina foram avaliadas por imunohistoquímica e a morfologia das glândulas lacrimais feita por microscopia eletrônica. Realizamos, também, estudo enzimático da atividade da peroxidase em resposta a alta concentração de glicose e carbacol. Sinaptofisina foi localizada na membrana plasmática de células acinares e ductais, não sendo observada diferença na expressão ou localização em glândulas lacrimais de ratos diabéticos. Observamos, por microscopia eletrônica, grânulos secretórios de diversos tamanhos distribuídos no citoplasma das células acinares. Na região apical foram encontrados grânulos com morfologia semelhante aos de insulina. SNAP-23 e VAMP-2 apresentaram expressão gênica aumentada em glândulas lacrimais de ratos diabéticos. Fragmentos de glândula lacrimal, incubados por 1h com alta concentração glicose ou carbacol, mostraram aumento na secreção de peroxidase comparados aos seus controles, não sendo observadas diferenças na secreção entre controles e diabéticos.

**Conclusões:**

Glândulas lacrimais de ratos diabéticos não apresentaram danos estruturais ou fisiológicos, demonstrando boa capacidade de resistência ao estresse oxidativo induzido por estreptozotocina. Além disso, aumento na expressão da SNAP-23 e VAMP-2 indica adaptação do tecido lacrimal frente ao quadro de diabetes.

29.101

INTERAÇÃO DO HORMÔNIO TIROIDEANO COM O SISTEMA NERVOSO SIMPÁTICO NA REGULAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO. <sup>1</sup> Fonseca, T.L. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Freitas, F. R. S.; <sup>3</sup> Wang, C. C. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Nonaka, K.O.; <sup>5</sup> Gouveia, C. H. A.; <sup>1, 5</sup> Anatomia ICB III, USP; <sup>2</sup> Anatomia ICB III, Instituto de Ciências Biomédicas; <sup>3, 4</sup> Ciências Fisiológicas, UFSCar

**Objetivo:**

Este estudo tem como meta investigar se há interação entre as ações do hormônio tiroideano (HT) e do sistema nervoso simpático (SNS) no tecido ósseo.

**Métodos e Resultados:**

Camundongos fêmeas de 60 dias foram tratados, por 42 dias, com tiroxina (T4; 10ug/100g•PC/dia) em associação ou não com propranolol (Prop; 0,4mg/kg•PC/dia), um bloqueador β-adrenérgico, ou isoproterenol (Iso; 3mg/kg•PC/dia), um agonista β-adrenérgico. Os animais foram divididos nos seguintes grupos (n=6-10/grupo): controle (Con), T4, Prop, T4+Prop, Iso, T4+Iso. Após sacrifício, os fêmures coletados. A expressão do mRNA dos receptores β2-adrenérgicos (β2-AR), da osteocalcina (OC) e do Ligand receptor activador of nuclear factor-κB (Rank-L) foram avaliadas no fêmur esquerdo por PCR em tempo real. O fêmur direito foi submetido ao Teste de Flexão de Três Pontos para a análise da Rigidez Óssea (RO). O tratamento com Prop ou Iso promoveu aumento, embora não significativo, da expressão gênica dos β2-AR (1,8x e 1,5x, respectivamente, vs CON.); por outro lado, o tratamento com T4 não teve efeito. A expressão da OC não foi alterada por nenhum tratamento, enquanto que a expressão de RANK-L foi aumentada (aproximadamente 2x) por todos os tratamentos. Enquanto o T4 diminuiu a RO em 26,3% vs. CON (p<0,001), o Prop não alterou esse parâmetro quando administrado sozinho. Por outro lado, a administração do Prop em combinação com o T4 bloqueou a diminuição da RO. O tratamento com Iso sozinho não alterou a RO e a sua associação com T4 levou a RO 36,15% menor do que aquela do grupo CON (p<0.001).

**Conclusões:**

Mostramos que o bloqueio dos β2-AR minimiza os efeitos deletérios do T4 na RO. Além disso, o T4 não aumenta a expressão dos β2-AR no tecido ósseo. O presente estudo sugere que o HT interage com o SNS na regulação da fisiologia óssea, entretanto, não o faz aumentando a responsividade do tecido ósseo ao SNS, via aumento da expressão dos β2-AR.

29.102

INFLUÊNCIA DA ADMINISTRAÇÃO DE *STREPTOZOTOCIN* APLICADO PERÍODO NEONATAL DE RATAS WISTAR. <sup>1</sup> YK, S.; <sup>2</sup> damasceno, C.; <sup>3</sup> Lima, P. H. O. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Campos, K. E. <sup>\*\*</sup>; <sup>1</sup> Ginecologia e Obstetrícia, UNESP; <sup>2, 3, 4</sup> Ginecologia e Obstetrícia, UNESP Botucatu

**Objetivo:**

Diversos trabalhos experimentais sobre *Diabetes mellitus* Tipo 2 (DM2), são realizados utilizando diferentes formas de indução, dentre elas, destacam-se o emprego de linhagens específicas, administração de dietas hipercalóricas, aplicação de drogas, intervenção cirúrgica, entre outros. *Streptozotocin* (STZ) é um agente beta-citotóxico empregado para indução do diabetes experimental, mimetizando o DM1. Para obtenção do modelo de DM2 em animais, STZ tem sido administrada, em dose única, no período neonatal. O objetivo deste trabalho foi avaliar o perfil lipídico, glicemia e estresse oxidativo de ratas Wistar expostas a *streptozotocin* no período neonatal.

**Métodos e Resultados:**

Ratas Wistar foram submetidas à injeção intraperitoneal de tampão citrato (controle - G1, n= 6) ou STZ (70mg/kg - G2, n=6) no 5º dia pós-natal. No 3º mês de vida, foram coletadas amostras de sangue pela veia da cauda para determinação de colesterol total, triglicérides, proteínas totais, glicemia, atividades de enzimas antioxidantes (Superóxido dismutase –SOD, Glutathione total-GSht) e do indicador de estresse oxidativo (Malonaldeído – MDA). Os animais tratados com STZ não mostraram alteração na atividade de GSht (G1=0,37·0,20, G2=0,28·0,05·M/gHb) e na concentração proteínas totais (G1=5,26·2,8, G2=4,21·2,2g/dL) em relação ao grupo controle, mas apresentaram aumento nas taxas de colesterol total (G1=39,03·20,8, G2=165,94·87,5mg/dL), triglicérides (G1=60,43·37,2, G2=109,80·57,80mg/dL), aumento de MDA (G1=60,0±45,4, G2=189,01±30,9nM/gHb), diminuição na atividade de SOD (G1= 4193,76±1931,80

G2=2446,63±880,70U/mgHb) e glicemia entre 100 – 200 mg/dL quando comparados aos do grupo G2.

**Conclusões:**

Portanto, a administração de STZ no período neonatal a ratas Wistar causou diabetes de intensidade moderada, promovendo quadro de estresse oxidativo e alteração no perfil lipídico.

29.103

EFEITO DO PALMITATO NA VIA DE SINALIZAÇÃO DA INSULINA EM ILHOTAS PANCREÁTICAS DE RATOS <sup>1</sup> Graciano, M. F. R.; <sup>2</sup> Carpinelli, A. R.; <sup>1</sup> Fisiologia ICB, USP; <sup>2</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP

**Objetivo:**

Dada a importância dos ácidos graxos na patogênese do diabetes alterando o processo secretório de insulina, incluindo a transmissão de sinal do IR, buscamos estabelecer a ação aguda do palmitato, um ácido graxo saturado de cadeia longa, na via de sinalização da insulina. Para tanto, avaliamos os graus de fosforilação de IRS-1/2, os substratos do receptor de insulina; da associação da PI 3-cinase ao IRS-1/2, além da expressão e fosforilação da AKT em serina e ERK 1/2 em tirosina e treonina nas ilhotas pancreáticas isoladas de ratas.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos ratas Wistar de 2 a 3 meses e 200g ±5% de peso corporal. O isolamento das ilhotas de Langerhans é realizado pelo método da digestão do pâncreas exócrino por colagenase diluída em Hanks a 0,7mg/mL. As amostras são incubadas em 0,1mM palmitato e 5,6mM glicose por 30 minutos a 37°C e submetidas à extração total de proteínas para avaliação da AKT e ERK1/2 por Westernblotting. Através de imunoprecipitação avaliamos a fosforilação de IRS-1/2, bem como sua associação à PI 3-cinase.

O palmitato induziu aumento de 64% (P<0,02) nos níveis de fosforilação em tirosina do IRS-2 em relação ao controle (n=5), porém não produziu alterações no grau de fosforilação do IRS-1(n=2). Não foram observadas alterações na associação da PI 3-cinase ao IRS-1 (n=7) nem ao IRS-2 (n=6). Não houve diferenças significativas, após 30 minutos de incubação, na expressão protéica e nos graus de fosforilação da AKT (serina) (n=3 e n=10, respectivamente) e da ERK (tirosina e treonina) em relação ao controle (n=5 para o conteúdo protéico e n=8 para o grau de fosforilação).

**Conclusões:**

Nossos dados evidenciam que o palmitato, agudamente, em concentrações basais de glicose, atua aumentando a fosforilação em tirosina do IRS-2, o que poderia mediar a ativação de vias envolvidas tanto em eventos mitogênicos, quanto associados à secreção de insulina, sem a participação da Akt e ERK1/2.

29.104

INFLUÊNCIA DA TIREOIDECTOMIA NOS PROCESSOS ANÊMICOS E NAS FRAÇÕES LIPÍDICAS EM RATOS Marcondes, R. ; Olmedo, P.; Stivaletti, V. L. G.; Douglas, N. G.; Bachi, A.; Leite, C.; Núcleo de Pesquisas Biológicas UMESP

**Objetivo:**

Verificar os efeitos da tireoidectomia sobre os processos anêmicos e no perfil bioquímico de colesterol total e frações lipoprotéicas em ratos jovens.

**Métodos e Resultados:**

O experimento foi realizado em 28 ratos machos com 3 meses de idade da cepa *Sprague-Dawley*, mantidos em condições padrão de biotério, durante 9 semanas. Grupo Controle (GC - n=7); grupo tireoidectomizados com reposição hormonal (GTH - n=7), foram pesados diariamente para cálculo do hormônio, o qual foi injetado duas vezes ao dia; grupo tireoidectomizados sem reposição hormonal (GTS - n=7); grupo normal com hormônio (GNH - n=7) pesados diariamente para cálculo do hormônio injetado duas vezes ao dia. Durante o experimento analisou-se semanalmente o hematócrito em todos os grupos. Ao final do experimento os ratos foram anestesiados e eutanasiados por hipovolemia aguda. No sangue foi determinado o colesterol e as frações lipoprotéicas. Com relação aos níveis de colesterol total plasmático (mg/dl) houve uma redução nos grupos experimentais em comparação ao grupo controle (GC= 90,25 ± 18,43; GTH= 87,13 ± 22,77; GTS= 67,27 ± 15,28; GNH= 79,41 ± 12,02;). Os níveis de LDL (mg/dl) foram maiores nos grupos experimentais em relação ao grupo controle (GC= 117 ± 18; GTH= 123 ± 6; GTS= 124 ± 12; GNH=

126 ± 7). Os níveis de HDL (mg/dl) também foram superiores nos grupos experimentais em relação ao grupo controle (GC= 34,71 ± 7,67; GTH= 39,50 ± 9,67; GTS= 43,17 ± 18,28; GNH= 41,29 ± 4,82). A análise estatística utilizada foi ANOVA, fator único e pós-teste de TUKEY com p<0,05.

#### **Conclusões:**

Poder-se-ia concluir que a reposição hormonal administrada nos grupos de ratos experimentais não apresentaram o efeito esperado porque tanto o grupo com reposição como o grupo sem reposição se mantiveram inalteráveis.

29.105

A LEPTINA E A SINALIZAÇÃO DA INSULINA NO CORAÇÃO DE RATOS HIPERALIMENTADOS DURANTE A LACTAÇÃO. RO, P. <sup>\*\*</sup>; Moreira, A. S. B. <sup>\*</sup>; Souza, A. C. <sup>\*\*</sup>; Martins, R.M. <sup>\*</sup>; Osso, F. S. <sup>\*\*</sup>; Moura, A. S.; Ciências Fisiológicas UERJ

**Objetivo:** As doenças cardiovasculares estão associadas à obesidade. Sugere-se que modificações da ação integrada da insulina e leptina constituem a base etiopatológica de ambas. A insulina controla o metabolismo energético e o crescimento. A leptina, por sua vez, regula o balanço energético, os estoques de gordura e funções neuroendócrinas. A via de sinalização de ambas compartilham de uma similar cascata de ativação. O objetivo do presente trabalho foi estudar a cascata de sinalização da insulina e leptina no coração de ratos hiperalimentados durante a lactação

#### **Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar machos foram separados em 2 grupos: filhotes hiperalimentados (através da redução de ninhada para 4 animais) e filhotes controles (ninhada completa de 10-12 animais). O conteúdo dos receptores da insulina e da leptina, assim como, as proteínas envolvidas na cascata de sinalização da insulina no coração, foi estudada pelo método de Western Blotting. Aos 21 dias observou-se aumento na expressão do receptor de leptina (Ob-R) nos animais hiperalimentados, quando comparados aos controles. Similarmente, em animais hiperalimentados com 21 dias, há uma expressão aumentada das proteínas JAK-2 e STAT-3 e uma maior translocação de GLUT-4 para a membrana. Todos os componentes da cascata analisados apresentaram uma maior expressão aos 21 dias, quando comparados aos grupos de 10 dias. Também nos animais hiperalimentados, aos 10 e 21 dias, observouse significativo aumento da insulina plasmática.

**Conclusões:** A hiperalimentação durante o período de lactação induz aumento no provimento energético do coração. A leptina provavelmente interage com a cascata de sinalização da insulina resultando em maior translocação de GLUT-4 e, portanto, captação de glicose.

29.106

AUTOTRANSPLANTE SUBCUTÂNEO HOMÓLOGO DE TESTÍCULO EM RATOS <sup>1</sup> Miragem, A. A.; <sup>2</sup> Silva Neto, B. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Reche, M. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Kliemann, L. M.; <sup>5</sup> Corleta, H. v E.; <sup>6</sup> Capp, E.; <sup>1</sup> Fisiologia, UFRGS; <sup>2, 3, 6</sup> Fisiologia, UFRGS; <sup>4</sup> Patologia, HC Porto Alegre; <sup>5</sup> Ginecologia e Obstetria, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

#### **Objetivo:**

Verificar a capacidade de secreção de testosterona de testículos transplantados em fatias e em gônada inteira sem anastomose.

#### **Métodos e Resultados:**

Participaram deste estudo 17 ratos machos Wistar (200-350 g) com 90 dias de vida, mantidos em condições padrão de biotério, divididos em quatro grupos: G1 (controle, sham), G2 (castrados) com n=4, G3 (implante fatiado) com n=5, G4 (implante gônada inteira) com n=4. Nos Grupos G3 e G4, um dos testículos foi selecionado aleatoriamente e implantado em uma bolsa dorsal subcutânea de 0,5 cm<sup>2</sup>. Resumidamente, uma incisão de 1 cm foi feita dorsalmente e o tecido subcutâneo divulgado em uma pequena bolsa para receber o implante. Após 8 semanas, os níveis séricos de testosterona livre foram medidos por radioimunoensaio (DPC, Los Angeles, CA) conforme protocolo do fabricante. Os níveis de testosterona livre (pg/mL), obtidos em (mediana [intervalo interquartil]) foram para G1 (5,765 [2,795 – 6,544]), em G2 (0,026 [0,024 – 0,027]), em G3 (0,041 [0,034 – 0,043]) e em G4 (0,039 [0,034 – 0,108]), apresentando diferença significativa (p < 0,05), entre G1 e G2 (p < 0,001), entre G2 e G3 (p=0,006), entre G2 e G4 (p=0,006), entre G1 e G3 (p=0,004) e entre G1 e G4 (p=0,008). As concentrações de testosterona foram comparadas por Kruskal-Wallis seguido de teste post-hoc de Tukey para os dados ordenados.



**Conclusões:**

Os níveis de testosterona livre observados nos ratos transplantados foram maiores que nos castrados, sugerindo uma possível preservação da capacidade de secreção hormonal do tecido implantado. Parâmetros sexuais foram analisados posteriormente demonstrando comportamentos dependentes de testosterona nos grupos implantados, o que reforça os resultados obtidos na dosagem hormonal.

29.107

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES TRATAMENTOS PARA INDUÇÃO DE HIPOTIREOIDISMO EM CAMUNDONGOS** <sup>1</sup> GSM, P.; <sup>2</sup> Ferraz, T. T. \*; <sup>3</sup> KJ, O.; <sup>4</sup> Pazos-Moura, C. C.; <sup>1</sup> IBCCF BI G, UFRJ; <sup>2,3,4</sup> Endocrinologia Molecular, UFRJ

**Objetivo:**

Experimentalmente, o hipotireoidismo pode ser induzido utilizando-se drogas que bloqueiam a síntese dos hormônios tireóideos. Duas drogas amplamente utilizadas são o Metimazol (MMI) e o Propil-tiouracil (PTU). Entretanto, camundongos que são tratados com MMI, têm aumento no TSH sérico somente em torno de 3 a 5 vezes, o que pode ser considerado um hipotireoidismo leve. Neste trabalho nosso objetivo foi testar, em camundongos, a eficiência da indução de hipotireoidismo utilizando-se PTU e PTU associado ao MMI.

**Métodos e Resultados:**

Camundongos machos foram divididos em 3 grupos (n=4): Controle (C) (ração comercial e água filtrada), PTU (ração com PTU 0,15% e água filtrada), PTU+MMI (ração com PTU 0,15% e água com MMI 0,1%). O PTU foi adicionado à ração comercial em nosso laboratório. Durante os 15 dias de tratamento, avaliamos os consumos de ração e água. Após o sacrifício, o sangue foi coletado para quantificação do TSH sérico por radioimunoensaio específico. O TSH sérico nos grupos tratados com PTU e PTU+MMI foi 30 vezes maior do que o grupo Controle. (C=116,6 ±13,29; PTU=3730±523,8\*; PTU+MMI=2971±334,7\*; \*P<0,001; ng/mL). A ingestão de ração do grupo PTU foi semelhante a do grupo Controle, enquanto o grupo PTU+MMI teve uma diminuição significativa em relação aos dois grupos (≅ 30%; P<0,05). A ingestão hídrica do grupo PTU foi significativamente maior do que a do grupo Controle (≅16%; P<0,05), entretanto o grupo PTU+MMI teve uma diminuição significativa quando comparado aos grupos Controle e PTU (≅ 32%; P<0,05).

**Conclusões:**

O tratamento com PTU (0,15% na ração/15 dias) foi extremamente eficiente para induzir hipotireoidismo em camundongos. Além disso, observamos que a associação de MMI a PTU não potencializou o efeito do PTU. A menor ingestão hídrica e alimentar do grupo PTU + MMI quando comparado a PTU e controle pode estar correlacionado com a menor eficiência do MMI em provocar hipotireoidismo em camundongos observado em experimentos anteriores.

29.108

**AVALIAÇÃO DOS MARCADORES HEPÁTICOS NA CIRURGIA BARIÁTRICA** <sup>1</sup> Abreu, M. R. A. \*\*; <sup>2</sup> Pinho, A. P. \*\*; <sup>3</sup> Vendramini, R. C. \*\*; <sup>4</sup> Brunetti, I. L.; <sup>5</sup> Pepato, M. T.; <sup>1,3,4</sup> Análises Clínicas, UNESP Araraquara; <sup>2</sup> Análises Clínicas, UNAERP; <sup>5</sup> Análises Clínicas, UNESP Araraquara

**Objetivo:**

Avaliar o comportamento dos marcadores hepáticos séricos antes e após a Cirurgia Bariátrica (CB), uma vez que a obesidade está associada à presença de esteatose hepática a qual promove o extravasamento de enzimas intracelulares.

**Métodos e Resultados:**

Após aprovação pelo Comitê de Ética da FCF-UNESP-Araraquara (n.11/2003-CEP) quantificamos os marcadores hepáticos séricos ALT, AST, ALP, LD,  $\gamma$ -GT, Colesterol (Kits Diasys), Proteína, Albumina e ChE (Kit Wiener) (equipamento de automação Express Plus-Bayer) de 14 pacientes do Hospital Regional de Assis, antes e 1 e 3 meses após CB, e também coletamos os dados antropométricos. A análise estatística-ANOVA-One Way e Student-Newman-Keuls. Verificamos uma redução significativa de 14,3 Kg (10%) e 25,7 Kg (18%) no peso corporal no 1º e 3º mês respectivamente. A comparação intra-grupo para todos os parâmetros mostrou que apenas a ALT sofreu queda de sua atividade quando os períodos 1º mês (39,0±25,8 U/L) vs 3º mês (22,7±18,7 U/L) foram comparados. Em relação aos valores de referências (VR) para o sexo feminino apenas a ALT encontrou-se elevada no 1º mês (36,9±7,7 U/L), enquanto a  $\gamma$ -GT já apresentava valores

semelhantemente maiores antes ( $40,0 \pm 6,8$  U/L) e no 1º mês após cirurgia ( $40,6 \pm 7,4$  U/L), normalizando no 3º mês ( $27,7 \pm 5,1$  U/L). Os resultados de ALT > AST e de AST e  $\gamma$ -GT elevados sugerem a instalação da esteatose após a cirurgia e que a mesma regrediu após redução acentuada de peso (3 meses). O Colesterol apresentou pequena elevação em relação ao VR antes da cirurgia ( $211,7 \pm 35,8$  mg/dl) e uma redução estatisticamente não significativa nos períodos pós-cirúrgicos ( $178,7 \pm 58,8$  mg/dl e  $190,5 \pm 49,4$  mg/dl), mas suficiente para atingir a normalidade. Os demais parâmetros não sofreram alteração com a redução de peso.

**Conclusões:**

A obesidade mórbida causou elevação de ALT,  $\gamma$ -GT, colesterol. A CB, num curto período de tempo (3 meses), foi eficiente na redução desses marcadores hepáticos séricos.

29.109

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA DA SUBSTÂNCIA COM PROPRIEDADE INIBITÓRIA DA TIREOPEROXIDASE PRESENTE EM BÓCIOS HUMANOS <sup>1</sup> M, N. F. <sup>\*\*</sup>; <sup>2</sup> Cardoso, L. C.; <sup>3</sup> Ginabreda, M. G. P. <sup>\*\*</sup>; <sup>4</sup> Vaisman, M.; <sup>5</sup> Carvalho, P.; <sup>6</sup> Rosenthal,; <sup>1, 3, 5, 6</sup> Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ; <sup>2, 4</sup> HUCCF, UFRJ

**Objetivo:**

Células tireóideas em cultura podem perder a capacidade de organificar iodo, vários dias antes do desaparecimento da atividade de oxidação do iodeto da TPO, devido à presença de um inibidor citosólico. Há, também, relatos da presença de uma substância inibitória da TPO em alguns bócios. Objetivos: Esse trabalho objetiva identificar a presença do inibidor da TPO em tireóides humanas, obtidas por tireoidectomia eletiva, e a caracterização bioquímica dessa molécula.

**Métodos e Resultados:**

Metodologia e Resultados: Foram estudados: 7 Bócios Multinodulares Atóxicos (BMNA), 3 Adenomas (AD) e 1 Carcinoma folicular (CF). Após homogeneização as amostras foram centrifugadas a 105000xg. A fração solúvel foi precipitada em 50% de sulfato de amônia 4M por 24h, e a tireoglobulina assim purificada foi ressuspensa em tampão fosfato 50mM pH 7,4 (fração Tg). A inibição foi testada pelo efeito de volumes crescentes da fração Tg sobre a geração de triiodeto pela TPO, e quantificada a partir da quantidade de proteína capaz de inibir 50% da atividade inicial. Houve maior atividade inibitória nas amostras de AD e CF do que nas de BMNA. Para testar o efeito da fosfatase alcalina sobre a atividade inibitória, as frações Tg das amostras com maior efeito inibitório foram incubadas por 12h, a 37°C, com espermina 1mM em tampão Tris-HCl pH 9,3, contendo 1mM de MgCl<sub>2</sub> e 0,1mM de ZnCl<sub>2</sub>. A reação foi parada por incubação em 5mM de EDTA a 95°C, por 10 min. A atividade inibitória desapareceu nas amostras incubadas com espermina 1mM.

**Conclusões:**

Conclusões: A presença do inibidor da TPO, varia dependendo da doença tireóidea. Pode-se sugerir uma estrutura fosfoglicana, substrato preferencial da fosfatase alcalina, já que esta reverteu a atividade inibitória.

29.110

EFEITOS DA TERAPIA DE REPOSIÇÃO HORMONAL PÓS-MENOPAUSAL SOBRE PARÂMETROS DO METABOLISMO DAS LIPOPROTEÍNAS PLASMÁTICAS E MARCADORES DE ATEROSCLEROSE PRECOCE <sup>1</sup> CASTANHO, V.; <sup>2</sup> Gobo, L.; <sup>3</sup> Faria, E. C.; <sup>1, 2, 3</sup> Patologia Clínica FCM, UNICAMP

**Objetivo:**

OBJETIVO: Determinar se a terapia de reposição hormonal pós-menopausal (TRHPM) modifica os perfis lipoproteico e apolipoproteico séricos, as atividades de proteínas reguladoras do metabolismo lipídico como a proteína de transferência do colesterol-éster (CETP), a proteína de transferência de fosfolípidos (PLTP), a lipase hepática (LH), a lipoproteína lipase (LPL) e alguns marcadores precoces da aterosclerose como os títulos de anticorpos séricos anti-LDL oxidada (ANTI LDL-OXI) e a espessura íntima-média de artérias carótidas (EIM).

**Métodos e Resultados:**

Foram estudadas 95 mulheres em pós-menopausa (amenorréia há 1 ano no mínimo) participantes do Ambulatório de Dislipidemias do Hospital de Clínicas da Unicamp, 44 em TRHPM (terapia de reposição hormonal pós menopausal) com  $60 \pm 7$  anos e 51 sem TRHPM,  $61 \pm 9$  anos. A TRHPM

foi usada por no mínimo 6 e até 60 meses no máximo e se constituiu de estrógenos conjugados 0,625 mg, VO. Um subgrupo de pacientes (30% dos casos) utilizava reposição hormonal combinada com acetato de medroxiprogesterona, 5 ou 10 mg. As atividades de CETP, PLTP e as lipases foram determinadas por métodos radiométricos, a LDL-OXI por método de ELISA, os lípidos e lipoproteínas por métodos enzimáticos e as apolipoproteínas por nefelometria. A comparação entre os grupos estudados foi realizada pelo teste "t" de Student com níveis de significância em  $p < 0,05$ .

**Conclusões:**

As atividades de CETP, PLTP, LH e LPL não se modificaram com o uso de TRHPM, estrógenos conjugados associados à medroxiprogesterona ou não.

Obtivemos também resultados similares entre os grupos para EIM e ANTI LDL-OXI.

Estes resultados não indicam efeitos benéficos pelo uso de TRHPM sobre o metabolismo lipídico.

29.111

EXPRESSÃO GÊNICA DE *BCL-2* NA ENDOMETRIOSE PÉLVICA <sup>1</sup> Lecke, SB; <sup>2</sup> Morsch, M.; <sup>3</sup> Carneiro, MM; <sup>4</sup> Camargos, AF; <sup>5</sup> Reis, F. M.; <sup>6</sup> Spritzer, PM; <sup>1,2</sup> Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; <sup>3,4,5</sup>, UFMG; <sup>6</sup> Fisiologia, UFRGS

**Objetivo:**

A endometriose é uma doença benigna que acomete 5 a 15% das mulheres. Caracteriza-se pelo crescimento ectópico de tecido endometrial e está associada com infertilidade. Embora sua etiopatogenia não esteja ainda esclarecida, sabe-se que é uma doença dependente de estrogênios. O gene *bcl2* tem ação anti-apoptótica. Estudos anteriores de nosso grupo mostraram que a expressão de *bcl2* é regulada por estrogênio em tecido mamário. Assim, no presente estudo, procuramos determinar a expressão gênica de *bcl2* em implantes endometrióticos em comparação com tecido endometrial normal.

**Métodos e Resultados:**

O estudo incluiu pacientes inférteis, submetidas à laparoscopia e divididas em dois grupos: controles ( $n=19$ ,  $32,9 \pm 0,9$  anos) e endometriose ( $n=15$ ,  $31,7 \pm 1,5$  anos). As biópsias de endométrio e de implante endometriótico foram realizadas na fase folicular do ciclo menstrual. O estudo de expressão gênica foi realizado por RT-PCR. Dados anteriores demonstraram que não houve diferença estatística entre os grupos controle e endometriose para IMC e ou SHBG. O gene de *bcl2* foi expresso nas amostras de endométrio ectópico, tópico e nos endométrios do grupo controle, mas não houve diferença estatística entre os grupos ( $0,98 \pm 0,04$ ;  $0,91 \pm 0,02$  e  $0,99 \pm 0,04$ , respectivamente,  $p=0,460$ ).

**Conclusões:**

Os dados do presente estudo sugerem que o gene de *bcl2* parece não influenciar, de forma específica, a ação estrogênica sobre os implantes endometrióticos, pelo menos durante a fase proliferativa. Estudos futuros poderão confirmar se a expressão de *bcl2* está alterada nos implantes endometrióticos, quando coletados em fase secretora.

29.112

FUNÇÃO TIREÓIDEA E IODOTIRONINA DESIODASE TIPO 1 EM RATOS: EFEITO DE ESTERÓIDES SEXUAIS. <sup>1</sup> P, M. M. \*\*; <sup>2</sup> Fortunato, R. S. \*\*; <sup>3</sup> Pereira, V. S. \*; <sup>4</sup> Carvalho, P.; <sup>5</sup> Rosenthal.; <sup>6</sup> Costa, V. M. C.; <sup>1</sup> Instituto Biofísica Carlos Chagas Filho BL. C, UFRJ; <sup>2,3,4,5,6</sup> Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ

**Objetivo:**

Uma etapa essencial à ação dos hormônios tireóideos é a conversão da tiroxina (T4) em triiodotironina (T3) que é catalisada por desidases dos tipos 1 (D1) e 2 (D2). Vários estudos referem diferenças entre sexos na regulação da atividade das desidases, em ratos; contudo, os resultados são controversos. Objetivo: Avaliar a influência dos esteróides sexuais (ES) sobre a atividade D1 tireóidea, hepática, renal e hipofisária, bem como outros parâmetros de função tireóidea.

**Métodos e Resultados:**

Métodos: Ratos Wistar adultos: machos divididos em controles (C) e orquiectomizados (ORX); fêmeas divididas em controles (C), ovariectomizadas (OVX), OVX + reposição diária com benzoato de estradiol (E2b), sc, 21 dias: (OVX+0,7:  $0,7 \mu\text{g}/100\text{g pc}$  e OVX+14:  $14 \mu\text{g}/100\text{g pc}$ ). A D1 foi

determinada nos homogeneizados, usando 125I-rT3 como substrato, e expressa como pmol rT3 min<sup>-1</sup> mg ptn<sup>-1</sup>. As concentrações séricas de TSH, T3 e T4 foram determinadas por RIE. Resultados: Não houve alteração de T3 e T4 séricos nos machos e fêmeas estudados. O TSH foi maior em machos (1,61±0,65ng/ml) que em fêmeas (1,12±0,26ng/ml) controles e não diferiu entre os grupos de machos e foi significativamente maior que as C apenas nas ratas OVX+14 (1,46±0,36ng/ml). As atividades D1 foram menores em fêmeas C que em machos C: hepática 39,3±3,4 vs 91,9±4,6, tireóidea 41,3±5,3 vs 125,3 ±7,6 e renal 47,8±5,7 vs 97,3±3,4 pmoles rT3 min<sup>-1</sup> mg ptn<sup>-1</sup>, respectivamente. Nas fêmeas, as D1 médias não variaram entre os grupos. Nos machos ORX, apenas a D1 hepática sofreu diminuição significativa se comparada ao grupo controle (66,5±3,6 vs 91,9±4,6 pmoles rT3 min<sup>-1</sup> mg ptn<sup>-1</sup>

**Conclusões:** Conclusões: Os ES masculinos são importantes para manter a atividade da D1 hepática, enquanto que os ES femininos parecem não alterar a atividade D1.

29.113

HORMÔNIO TIREOIDEANO (T3) AUMENTA A EXPRESSÃO E A TRANSLOCAÇÃO DO TRANSPORTADOR DE GLICOSE (GLUT4) EM MÚSCULO CARDÍACO DE RATOS. POSSÍVEL ENVOLVIMENTO DAS PROTEÍNAS LIGADAS AO EBOX E AO MEF2. <sup>1</sup> Giannocco, G.; <sup>2</sup> Brunetto, E. L. <sup>\*\*</sup>; <sup>3</sup> Scanlan, T. S.; <sup>4</sup> Machado, U. F.; <sup>5</sup> Nunes, M. T.; <sup>1</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP; <sup>2,4,5</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP; <sup>3</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, University of California

**Objetivo:**

O T3 aumenta de forma marcante a atividade cardíaca e o transporte de glicose, sendo o GLUT4 o principal transportador. Foi objetivo deste estudo investigar a participação das isoformas dos receptores de hormônio tireoideano (TRs) no controle da expressão desse gene, por meio da utilização do antagonista de TR $\alpha$  e  $\beta$  e do agonista do TR $\beta$ , bem como o envolvimento de mecanismos pós-transcricionais na ação do T3..

**Métodos e Resultados:**

Ratos tireoidectomizados (Tx), foram submetidos agudamente à tratamento com 100  $\mu$ g de T<sub>3</sub>/100 g, doses equimolares de GC-24/100g (composto tireomimético TR $\beta$ -seletivo), antagonista de TRs (NH<sub>3</sub>) e/ou salina (e.v.). Estudos similares foram desenvolvidos por administração crônica dos mesmos compostos (1;4,5;9X a dose fisiológica). Para avaliar se o efeito do T3 é transcricional/pós-transcricional utilizamos, 30 min antes da injeção de T3, a  $\alpha$ -amanitina/ciclohexamida, um inibidor da transcrição e tradução, respectivamente, e após 30 min sacrificamos os animais. O ventrículo foi extraído e avaliou-se o conteúdo de RNA mensageiro (RNAm) e da proteína GLUT4 por Northern e Western Blot, respectivamente. Proteínas nucleares foram utilizadas para gel shift. Após autorradiografia da membrana, seguiu-se a quantificação do RNAm, da proteína e da afinidade de ligação das proteínas nucleares ao EBOX, AT/elemento e ao TRE por densitometria. Resultados: O tratamento com T3 e GC-24 elevou o RNAm e a translocação do GLUT4 logo aos 30 min da sua administração. O efeito do T3 não foi alterado pela  $\alpha$ -amanitina, porém foi bloqueado pela ciclohexamida. O tratamento crônico com T3 e GC-24 elevou a expressão gênica do GLUT4, a qual foi inibida pelo NH<sub>3</sub>. No gel shift o tratamento agudo com T3 aumentou a afinidade de ligação de proteínas nucleares nas três regiões estudadas.

**Conclusões:**

O T3 age pós-transcricionalmente elevando a expressão e translocação do GLUT4, o que aumenta rapidamente a oferta de glicose para o tecido. A maior disponibilidade de fatores transcricionais ligados a região promotora do GLUT4 após o tratamento com T3 poderia explicar o aumento do mRNA logo aos 30 min. A reprodução dos efeitos crônicos do T3 pelo GC24 sugere que na ação transcricional do T3 há o envolvimento do TR $\beta$ .

29.114

INFLUÊNCIA DO DECA-DURABOLIM EM RATOS MACHOS DIABÉTICOS, SUBMETIDOS A EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO <sup>1</sup> Martins, A. <sup>\*</sup>; <sup>2</sup> Olmedo, P.; <sup>3</sup> Stivaletti, V. L. G.; <sup>4</sup> Douglas, N. G.; <sup>5</sup> Bachi, A.; <sup>6</sup> Leite, C.; <sup>1,3,4,5,6</sup> Núcleo de Pesquisas Biológicas, UMESP; <sup>2</sup> Núcleo de Pesquisas Biológicas, UMESP

**Objetivo:**

Analisar os efeitos anabolizantes do deca-durabolim, no perfil lipídico plasmático (Colesterol, LDL e HDL) em ratos diabéticos.

**Métodos e Resultados:**

Para este estudo foram utilizados 28 ratos da cepa Sprague-Dawley de 03 meses de idade, mantidos em condições padrão de Biotério, com alimentação e água "ad libitum". Os animais foram separados em 04 grupos e induzidos com estreptozotocina 50 mg/kg. Grupo Diabético Sedentário (DS). Grupo Diabético Tratado (DT) com deca-durabolim 20 µl, 03 vezes por semana durante 02 meses. Grupo Diabético Atleta (DA) estes animais foram submetidos à atividade física aeróbia em piscina com água aquecida com temperatura de 30 a 32° C, 03 vezes por semana com 04 tiros de 45" e intervalo de 2' de descanso. Grupo Diabético Atleta Tratado (DAT), tratado da mesma forma que o Grupo (DT) e com atividade física semelhante ao Grupo (DA). No fim do experimento, os ratos foram anestesiados e eutanaziados por hipovolemia aguda, através de punção aórtica. Em relação aos teores de colesterol plasmático e LDL (mg/ml) houve aumento no Grupo (DT) e redução nos Grupos (DA) e (DAT) em comparação ao Grupo (DS) (Colesterol, DS= 0,031 ± 0,007; DT= 0,045 ± 0,014; DA= 0,025 ± 0,013; DAT= 0,026 ± 0,013; LDL, DS= 0,27 ± 0,09; DT= 0,36 ± 0,2; DA= 0,21 ± 0,15; DAT= 0,18 ± 0,14). Em relação ao teor de HDL houve aumento nos grupos experimentais em comparação ao grupo DS (DS= 0,62 ± 0,13; DT= 0,66 ± 0,14; DA= 0,67 ± 0,2; DAT= 0,69 ± 0,16). A análise estatística utilizada foi ANOVA, fator único e pós-teste de TUKEY com p<0,05.

**Conclusões:**

Poder-se-ia concluir que o uso de deca-durabolim nos animais diabéticos, causaria aumento do colesterol plasmático e das frações lipídicas, enquanto que a atividade física diminui o conteúdo de colesterol plasmático e LDL e aumenta o teor de HDL.

29.115

INFLUÊNCIA DO GANGLIOSÍDEO GM1 EM RATAS COM HIPOTIREIODISMO INDUZIDO POR PROPILTIOURACIL Grandi, C. <sup>\*</sup>; Olmedo, P.; Stivaletti, V. L. G.; Douglas, N. G.; Bachi, A.; Leite, C.; Núcleo de Pesquisas Biológicas UMESP

**Objetivo:**

Analisar os efeitos do gangliosídeo GM1 e do propiltiouracil – PTU no hipotireoidismo através do perfil hormonal (T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH).

**Métodos e Resultados:**

Para este estudo, foram utilizadas 28 ratas de 03 meses de idade da cepa *Sprague-Dawley*, mantidos em condições padrão de biotério (T° 23 C°, umidade relativa do ar 50 a 55%, foto período de 12:12 h), com água e alimento "ad-libitum". Os animais foram separados em 04 grupos: Grupo Controle (07 animais); Grupo injetado com GM1 (gangliosídeo) 30 mg/kg de peso de rato via intraperitoneal (07 animais); Grupo PTU (propiltiuracil) 10 mg/diária via intraperitoneal (07 animais) por 60 dias; Grupo injetado com GM1 + PTU (gangliosídeo + propiltiouracil). O propiltiouracil foi administrado por um período de 60 dias e o GM1 durante os últimos 10 dias do experimento. Ao final do experimento os animais foram anestesiados e eutanasiados por punção aórtica, o sangue foi retirado para análises hormonais. Em relação ao T<sub>3</sub> (ng/ml) não houve modificação estatística (C= 3,46 ± 0,28; GM1= 3,82 ± 0,47; PTU= 3,82 ± 0,41; PTU + GM1= 3,81 ± 0,97;). Em relação ao T<sub>4</sub> (µg/ml) houve aumento nos grupos PTU e PTU + GM1 (C= 1,56 ± 0,013; GM1= 1,57 ± 0,021; PTU= 1,62 ± 0,038; PTU + GM1= 1,62 ± 0,59;). Em relação ao TSH (µUI/ml) houve aumento no grupo PTU + GM1 em comparado ao grupo PTU (C= 1,927 ± 0,003; GM1= 1,926 ± 0,001; PTU= 1,924 ± 0,003; PTU + GM1= 1,929 ± 0,0003;). A análise estatística utilizada foi ANOVA, fator único e pós-teste de TUKEY com p<0,05.

**Conclusões:**

Poder-se-ia concluir que o PTU e o PTU associado ao GM1 aumentou a concentração de T<sub>4</sub>. O PTU + GM1 levam a um aumento de TSH em relação ao PTU que inibe a desiodação periférica do T<sub>4</sub>. Neste caso específico se comportou diferente inibido pela ação do GM1 que atuou como mediador. É mister destacar que estes resultados podem ser mais evidentes, com um tempo maior de administração de GM1 (gangliosídeo).

29.116

INVESTIGAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA DE [VO(MORFOLINATO)<sub>2</sub>] IN VIVO <sup>1</sup> Paula, M. C. N. <sup>\*</sup>; <sup>2</sup> Giocondo, M. P. <sup>\*</sup>; <sup>3</sup> Reis, J. S. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Deflon, V. M.; <sup>5</sup> Batista, A. A.; <sup>6</sup> Vendramini, R. C.; <sup>7</sup>

Brunetti, I. L.;<sup>8</sup> Pepato, M. T.;<sup>1, 2, 3, 6, 7</sup> Análises Clínicas, UNESP Araraquara; <sup>4</sup> Química, UnB; <sup>5</sup> Química, UFSCar; <sup>8</sup> Análises Clínicas, UNESP Araraquara

**Objetivo:**

Avaliar o efeito da administração de [VO(morfolinato)<sub>2</sub>] sobre parâmetros fisiológicos e bioquímicos alterados no diabetes experimental.

**Métodos e Resultados:**

Síntese de [VO(morfolinato)<sub>2</sub>]-morfolina + sulfato de vanadilo, em metanol/água (1:2); caracterização por microanálise e ressonância paramagnética eletrônica. Experimento-Três dias pós-STZ (40 mg/Kg peso), ratos Wistar diabéticos compuseram: **DTVO**: grupo diabético tratado com 0,4 mmol/ml/Kg de [VO(morfolinato)<sub>2</sub>]/Kg - gavagem; **DTI**: grupo diabético tratado com insulina (3U, NPH, Biobrás)- via subcutânea; **DTS**: grupo diabético tratado com 0,5 mL de NaCl 0,9%; **DTT**: grupo diabético tratado com 0,5 mL de Tween 20 a 20%. Um quinto grupo-de animais normais- foi subdividido nos grupos NTVO, NTS e NTT. Os tratamentos ocorreram por 25 dias, sendo semanalmente avaliados parâmetros fisiológicos, glicemia, glicosúria e uréia urinária. No sacrifício quantificamos também glicogênio hepático, e pesos de tecidos adiposos e de músculos soleus e EDL. Observou-se diminuição na ingestão hídrica, volume urinário, ingestão alimentar, glicosúria e uréia urinária, quando comparamos o grupo DTVO aos grupos DTT e DTS.

	DTS	DTVO	DTT	DTI
Peso Corporal(g)	79,2±15,1	55,2±20,8	77,2±17,6 <sup>d</sup>	109,3±29,4
Ingestão Hídrica (mL/24h.100g)	57,7±3,3	43,4±6,3 <sup>a</sup>	57,3±2,6	33,7±7,9 <sup>b</sup>
Volume urinário (mL/24h.100g)	44,5±3,0	24,6±4,3 <sup>a</sup>	40,1±0,9 <sup>c,d</sup>	19,8±5,3 <sup>b</sup>
Ingestão alimentar (g/24h.100g)	13,9±13,3	10,5±10,1 <sup>a</sup>	13,0±1,1 <sup>d</sup>	11,4±1,9
Glicemia (mg/dL)	473,0±47,0	388,9±32,9	469,3±43,7	194,8±77,5 <sup>b</sup>
Glicosúria (g/24h.100g)	3,6±0,3	1,66±0,5 <sup>a</sup>	3,1±0,3 <sup>c</sup>	1,4±0,6
Uréia (mg/24h.100g)	585,4±47,5	355,9±35,2 <sup>a</sup>	587,3±86,7 <sup>c,d</sup>	344,5±36,0 <sup>b</sup>

Os valores representam média ± EP, com p<0,05 (n = 6-8). a. DTSxDTVO; b.DTSxDTI; c.DTVOxDTT; d.DTIXDTT

**Conclusões:**

O composto apresentou satisfatórias propriedades mimetizadoras da insulina, exceto em relação a melhoria da glicemia e do crescimento corporal.

29.117

MUTAÇÃO NO GENE DO RECEPTOR DE HORMÔNIO TIREOIDEANO BETA EM CAMUNDONGOS DIMINUI A MASSA CORPORAL E DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO APESAR DE AUMENTAR A INGESTÃO ALIMENTAR <sup>1</sup> Santiago, L. A.; <sup>2</sup> Santiago, A. <sup>3</sup> Dias, A. G. <sup>4</sup> Ortiga-Carvalho, T. M.; <sup>5</sup> Pazos-Moura, C. C.; <sup>1</sup> IBCCF BI G, UFRJ; <sup>2</sup> Biofísica CCS, UFRJ; <sup>3</sup> Ciências Fisiológicas Centro Biomédico, UERJ; <sup>4,5</sup> IBCCF, UFRJ

**Objetivo:**

Os hormônios tireoideanos (HTs) regulam processo de crescimento e desenvolvimento de vários tecidos. Pacientes com resistência aos HTs (RHT), devido a mutação em seu receptor beta (TRb), apresentam anormalidades fenotípicas no desenvolvimento corporal. Objetivamos caracterizar a influência de mutação no TRb associada à RHT no desenvolvimento corporal, na ingestão alimentar e leptina sérica de camundongos.

**Métodos e Resultados:**

Utilizamos camundongos machos (B) e fêmeas (≅) normais (WT), homocigotos (HO) e heterocigotos (HE) para a mutação (Δ337T) no TRb (TRbKI). Os animais entre 3 e 24 semanas

(sem) foram pesados e medidos semanalmente. Medimos a massa do tecido adiposo branco (TAB) – abdominal, inguinal e epididimal - e do tecido adiposo marrom (TAM). Para avaliar a ingestão alimentar, separamos os animais com 24 sem de vida em gaiolas individuais e após 5 dias de adaptação, a ingestão foi avaliada diariamente por 8 dias. A leptina sérica foi dosada por RIE. Os B HO apresentaram menor ganho de massa corporal a partir de 11 semanas até o sacrifício (24 sem WT: 29,55 +- 1,57g; HO: 25,48 +- 0,66g; p<0,01); o comprimento apresentou-se ligeiramente reduzido (24 sem: WT 10,56 +- 0,19cm; HO 10,13 +- 0,15cm, p<0,01). O TAB total corrigido pela massa corporal foi menor no HO comparado ao HE: ♂ 69,3%, p<0,01; ♀ 73,3%, p<0,05, sendo que a perda foi mais significativa no TAB inguinal (em torno de 40%). O TAM apresentou-se ligeiramente hipertrofiado nos HO (aumento de 48%, nas ♀ e de 2 vezes nos B). A ingestão alimentar corrigida pela massa corporal está aumentada nas ♀ HO x WT 29,2%, p<0,05 e nos B HO x WT 9,9%, p<0,05; HO x HE 13,9%, p<0,01. A leptina sérica do ♂ HO tende à elevação, apesar de diminuição de peso e gordura desses animais. Os HE se comportaram de maneira semelhante aos WT.

#### **Conclusões:**

A mutação TRbKI em homozigose acarretou em redução da massa corporal e da massa de TAB, apesar do aumento na ingestão alimentar observada.

29.118

O EXERCÍCIO FÍSICO, EM CAMUNDONGOS JOVENS, PODE SER CRÍTICO NO DESENVOLVIMENTO DA OBESIDADE. <sup>1</sup> Scomparin, X.; <sup>2</sup> Andreazzi, A. E. <sup>\*</sup>; <sup>3</sup> Lacerda, R. N. <sup>\*</sup>; <sup>4</sup> Grassioli, S. <sup>\*\*</sup>; <sup>5</sup> MATHIAS, P.C.F.; <sup>1</sup> Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá; <sup>1,2,3,4,5</sup> Biologia Celular e Genética, UEM

#### **Objetivo:**

Evidências experimentais e clínicas indicam que na obesidade o sistema nervoso simpático (SNS) está pouco ativo. O exercício físico é um potente estimulador do SNS. O exercício introduzido nos estágios iniciais da vida poderia acionar o sistema Simpático e simpatoadrenal e atenuar o desenvolvimento da obesidade. Nosso objetivo foi avaliar os efeitos da natação, e desenvolvimento da obesidade em camundongos jovens tratados com Glutamato monossódico (MSG).

#### **Métodos e Resultados:**

Camundongos Suíços receberam nos 5 primeiros dias de vida injeções intradérmicas de MSG (4g/Kg). Controles (C) receberam salina. Após o desmame os camundongos foram divididos em: C-sedentário (C SED); C-exercitado (C EXE); MSG-sedentário (MSG SED) e MSG-exercitado (MSG EXE). Os exercitados foram divididos: EXE 21-90 dias, EXE 21-50 e EXE 60-90. A natação foi realizada 3 vezes/ semana/15 min/dia. Aos 90 dias a obesidade foi avaliada pelo índice de Lee (i.L.) e peso das gorduras perigonadais. O conteúdo total de catecolaminas das adrenais foi dosado pelo método do trihidroxindol. O tratamento com MSG aumentou 20% o i.L. em relação aos C (p<0.001). O exercício, em qualquer fase, não alterou o i. L. dos C; todavia MSG apenas aos 21-90 houve queda de 12% e MSG 21-50 de 5%(p<0.001). O tratamento com MSG provocou aumento de 40% nas gorduras perigonadais (p<0.001). O exercício físico reduziu os estoques de gorduras nos C e MSG. Houve redução nos C apenas dos C 21-90 (28%) e nos 21-50 (20%) (p<0.001). Nos MSG EXE 21-90 a redução foi de 37% e nos 21-50, 20% (p<0.001). Os MSG apresentaram 32% menos catecolaminas nas adrenais em relação aos controles (p<0.001). A natação induziu aumento de 18% no grupo CON EXE 21-90; e 9% no grupo CON EXE 21-50 (p<0.001). No grupo MSG 21-90 houve aumento de 68% no acúmulo de catecolaminas em relação aos SED e, 30% nos MSG EXE 21-50 (p<0.001). Porém os MSG e C EXE 60-90 não apresentaram diferenças significativas.

#### **Conclusões:**

A natação iniciada no desmame atenua o desenvolvimento da obesidade mais do que a introdução do exercício na vida adulta e estimula o acúmulo de catecolaminas nas células cromafínicas de adrenais, mais do que o exercício introduzido na vida adulta.

29.119

TRATAMENTO COM DHEA EM RATOS VELHOS INDUZ AUMENTO NA ÁREA DAS ILHOTAS PANCREÁTICAS E MELHORA A SECREÇÃO DE INSULINA ESTIMULADA PELA GLICOSE <sup>1</sup> Medina, M. C.; <sup>2</sup> Caperuto, L. C.; <sup>3</sup> Carpinelli, A. R.; <sup>4</sup> Carvalho, C. R. O.; <sup>1</sup> Fisiologia ICB, USP; <sup>2</sup>

Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas; <sup>3</sup> Fisiologia y Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas; <sup>4</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, Instituto de Ciências Biomédicas

**Objetivo:**

O aumento da gordura abdominal está relacionado ao alto risco para o desenvolvimento de resistência à insulina. Administração de deidroepiandrosterona (DHEA) a roedores e humanos diminui o acúmulo de gordura visceral e melhora a sensibilidade à insulina. DHEA também melhora a secreção de insulina e protege as ilhotas pancreáticas dos efeitos inibitórios produzidos por interleucina-1B e estreptozotocina. Entretanto, os mecanismos relacionados tanto ao aumento da secreção de insulina quanto à sobrevivência das ilhotas pancreáticas não são completamente conhecidos. No presente trabalho foi investigado o efeito do tratamento com DHEA no pâncreas endócrino de ratos velhos

**Métodos e Resultados:**

Ratos Wistar com um ano de idade receberam dose única de DHEA (10 mg/kg/sc). Após 7 dias os animais foram sacrificados e os pâncreas foram removidos para estudo histológico. As ilhotas foram isoladas para análise por *immunoblotting* e secreção estática de insulina. O tratamento com DHEA induziu a um aumento na área das ilhotas pancreáticas acompanhado de incremento da secreção estática de insulina frente a concentrações crescentes de glicose e redução nos níveis protéicos do receptor de insulina (IR) para  $61 \pm 9\%$  ( $p < 0,05$ ), do IRS-1 para  $74 \pm 3\%$  ( $p < 0,05$ ) e do IRS-2 para  $53 \pm 25\%$  ( $p < 0,05$ ), porém, um aumento no nível protéico da proteína citosólica Akt1 para  $148 \pm 6\%$  ( $p < 0,05$ ).

**Conclusões:**

Este estudo revelou que uma dose única de DHEA induz regulação na expressão tecidual do receptor de insulina, do IRS-1, do IRS-2 e da Akt1, além de alterações morfológicas e funcionais nas ilhotas pancreáticas de ratos envelhecidos. Nossos resultados, além de outros encontrados na literatura, faz-nos pensar que, no futuro, este esteróide pode ser uma droga promissora no tratamento do diabetes e envelhecimento

29.120

AÇÃO DO HORMÔNIO TIROIDEANO (T3) E SEU ANÁLOGO GC-1, SOBRE A EXPRESSÃO GÊNICA DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO (GH): ESTUDO *IN VIVO* E *IN VITRO*. <sup>1</sup> Ferreira, P. J.; <sup>2</sup> Poyares, L. L.; <sup>3</sup> Nunes, M. T.; <sup>1</sup> Fisiologia e Biofísica ICB1, USP; <sup>2,3</sup> Fisiologia e Biofísica, USP

**Objetivo:** Investigar as ações do análogo de T3, o GC-1 (um composto tireomimético TR $\beta$ -seletivo), na expressão gênica do GH, em hipófise e em cultura de células hipofisárias, e comparar com as do T3, o que traria informações importantes sobre a participação da isoforma  $\beta$  dos receptores de T3 na expressão desse gene.

**Métodos e Resultados:**

Ratos tireoidectomizados (Tx), tratados com metimazol (0,03%) e CaCl<sub>2</sub> (4,5mM) por 20 dias foram submetidos à injeções intraperitoniais (ip) de veículo, T3 ou GC-1 nas doses de 1, 4,5, 9 e 45X a dose fisiológica. Após 15 dias de tratamento os animais foram sacrificados por decapitação. Avaliou-se também o tratamento em cultura de células primárias de hipófises com T3 e GC-1 na dose de 10<sup>-6</sup>M. Foi realizada a extração de RNA total de hipófise e da cultura e seguiu-se para avaliação do conteúdo de RNAm do GH por Northern Blot, utilizando-se a sonda <sup>32</sup>P-cDNA do GH. Para a normalização dos dados foi utilizada a sonda do RNA ribossomal 18S. Após autorradiografia da membrana, seguiu-se a quantificação do RNAm por densitometria. As concentrações plasmáticas de triglicerídeos e colesterol foram medidas por kits específicos. Os grupos tratados com T3 e GC-1 apresentaram aumento significativo da expressão do GH em relação ao grupo Tx; nos grupos tratados com GC-1, parece ocorrer um aumento da expressão do GH de maneira dose-dependente. Em cultura houve um aumento, embora não significativo, da expressão gênica do GH nos grupos tratados com T3 e GC-1. A concentração de triglicerídeos aumentou no grupo GC-1 1X em relação ao Tx e T3 1X e a colesterolemia apresentou redução significativa em todos os grupos em relação ao Tx, comprovando a eficiência do tratamento.

**Conclusões:**

Os resultados sugerem que, pelo menos parte dos efeitos do T3 sobre a expressão do gene do GH sejam mediados, principalmente, pelo TR $\beta$ , tanto nos tecidos como na cultura de células primárias.